RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 2 - Giugno 1961

REPERTI ISTOPATOLOGICI DA INOCULAZIONE DI CRIOLISATI PURIFICATI DI *E. HISTOLYTICA*.

G. Maiorca (*) e L. Magaudda-Borzì (**)

Vengono descritte le lesioni anatomo-istologiche rilevate a carico della milza, del fegato e del rene in topi albini inoculati per endovena con criolisato purificato di trofozoiti di *E. histolytica* da coltura. L'insieme dei reperti viene interpretato come l'effetto di una reazione del mesenchima attivo alla introduzione di proteine eterogenee, e si conclude per una scarsa tossicità del criolisato amebico impiegato

L'azione patogena sperimentale di *E.histolytica* era stata, in passato, messa in evidenza inoculando i trofozoiti direttamente nel lume intestinale; con questa metodica l'animale trattato mostrava, sopratutto, chiari sintomi di colite e, molto più raramente, compromissione dei vari parenchimi. Del tutto recentemente Buonomini e Mignani hanno studiato l'azione patogena esplicata dall'inoculazione endovenosa, in ratti e topi albini, di trofozoiti da coltura di *E.histolytica* e loro estratti. Per estratti i suddetti AA. intendono *criolisati* di trofozoiti, ottenuti sottoponendo per 3 volte consecutive a congelamento a —30°C e scongelamento a +37°C sospensioni contenenti circa 70.000 elementi per cc. Secondo gli AA. i trofozoiti di *E.histolitica* e i loro criolisati esercitano un'azione patogena particolarmente elettiva sui vasi, sui linfociti e sul fegato.

In possesso di estratti più purificati di *E. histolytica* ottenuti sottoponendo il criolisato a dialisi per 48 ore in acqua corrente e per 48 ore in acqua distillata, secondo la metodica adottata da uno di noi (Magaudda), abbiamo creduto opportuno ricorrere alla loro inoculazione per via endovenosa in animali di laboratorio, allo scopo di conoscere la eventuale azione patogena sui vari organi.

(*) *Istituto di Anatomia e Istologia Patologica dell'Università di Messina* (Direttore: Prof. F. Battaglia).

(**) *Istituto di Igiene dell'Università di Messina* (Direttore: Prof. R. De Blasi).

Materiale e metodi

Per la preparazione del criolisato amebico abbiamo usato il ceppo *Lero*, da noi conservato da lungo tempo in collezione mediante trapianti sistematici in terreno di B. e D. Tale stipite è associato ad una flora batterica, costituita dalle seguenti specie: *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *Kl. aerogenes* ed un bacillo anaerobio.

Come animali da esperimento abbiamo adoperato topolini bianchi del peso medio di gr. 20. Abbiamo eseguito le prove su 60 animali, divisi in tre lotti di 20: al primo lotto è stato inoculato, endovena, cc. 1 di antigene amebico (pari a 500.000 UT/cc.) (*) ceppo *Lero* ottenuto per criolisi e successiva dialisi, secondo la metodica di Magaudda e Pennisi. Ai topolini del secondo lotto è stato inoculato, endovena, cc. 1 di criolisato batterico, ottenuto con la stessa tecnica del precedente, dalla flora batterica associata alle colture del ceppo *Lero*. Quelli del terzo lotto hanno ricevuto, sempre per via venosa, cc. 1 di liquido di Locke, tratto da un matraccio contenente il terreno di B. D., dopo 48 h di permanenza in termostato a 37°C.

Nessuno degli animali trattati è venuto a morte spontaneamente; sono stati sacrificati a varia distanza di tempo dalla inoculazione (5, 10, 20, 30 giorni). Di ciascun animale sono stati prelevati i vari organi che venivano fissati in formalina a 10% e alcool a 80°.

Le sezioni dei pezzi, inclusi in paraffina, sono state colorate con i seguenti metodi: Emallume-eosina, Gomori per le fibre reticolari, Hotchkiss. La ricerca dei grassi è stata effettuata col Sudan III su fette tagliate al microtomo congelatore.

Descrizione dei reperti

Animali del 1° lotto (trattati con criolisato amebico)

Sistema nervoso centrale: Sia l'encefalo che le altre sezioni del nevrasse, le meningi, l'ependima, i plessi corioidei non presentano alterazioni patologiche.

Polmoni: Anche questi organi sono indenni, non rilevandosi processi essudativi fibrinosi o corpuscolari; solo in qualche caso presenti modesti fenomeni a tipo proliferativo che riguardano gli istiociti settali.

Cuore: Assenti manifestazioni patologiche.

Fegato: I diversi quadri istomorfologici di alterazione epatica possono considerarsi non costanti e non caratteristici. In alcuni casi, infatti, si hanno centri di necrosi di modeste proporzioni e non confluenti. In altri il parenchima epatico presenta fatti degenerativi torbido-grassi con vacuolizzazione citoplasmatica degli epatociti. In qualche animale si mettono in evidenza dei fatti di iperplasia reticoloendoteliale cui partecipano le cellule di Kupffer.

Milza e ghiandole linfatiche: A carico della milza si riscontrano, in tutti gli animali, costanti alterazioni istologiche consistenti in iperplasia dei follicoli linfoidi e della polpa rossa. In qualche animale si rileva anche un modesto aumento della quota megacariocitica.

(*) U.T. = unità trofozoitiche.

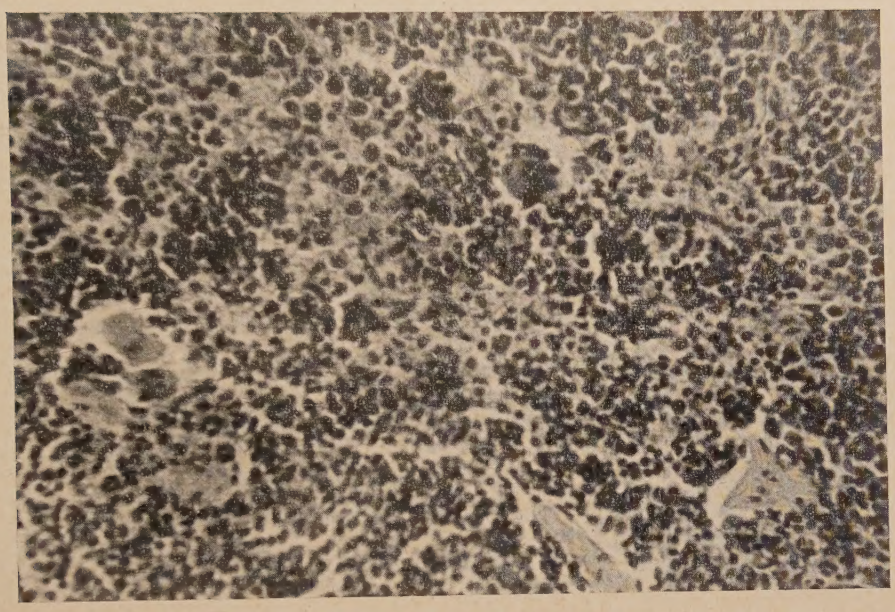

Fig. 1 - Animale I lotto - Milza: Iperplasia pulpare e fenomeni di stasi lacunare. Si osservano diversi elementi megacariocitari.

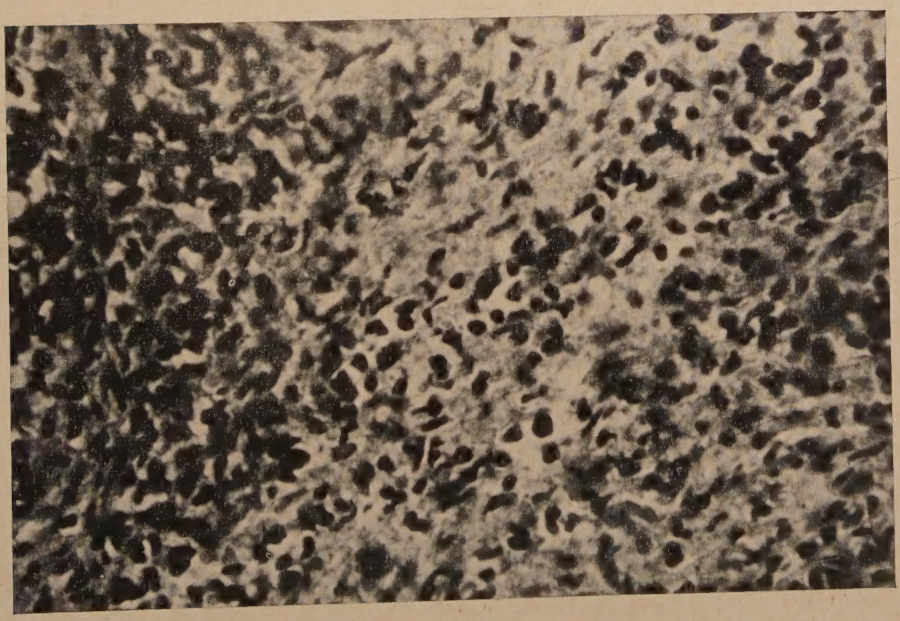

Fig. 2 - Animale I lotto - Milza: particolare della figura precedente.

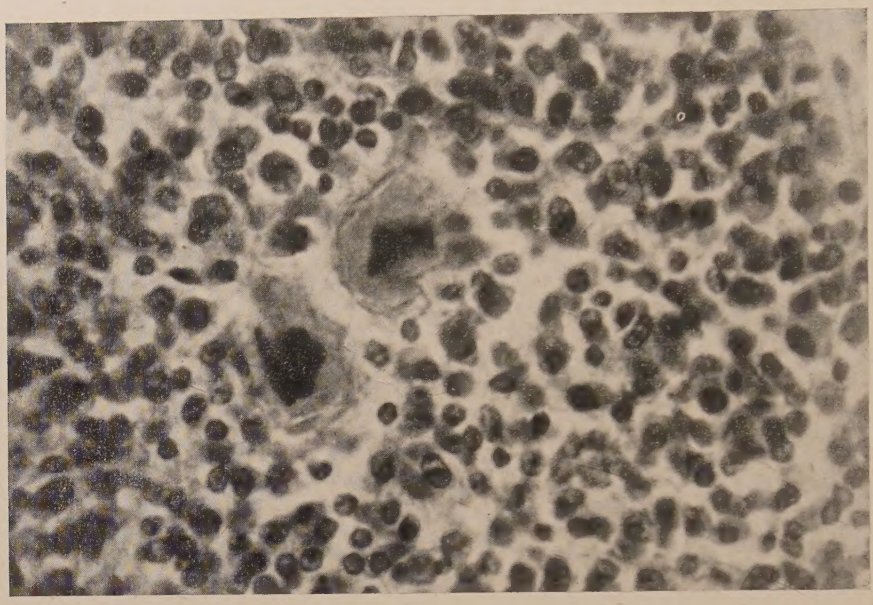

Fig. 3 - Animale I lotto - Milza: intensa iperplasia pulpare. Tra gli elementi rappresentati in maggior parte da linfociti e istociti si nota un discreto numero di plasmacellule. Al centro del campo due elementi megacariocitari.

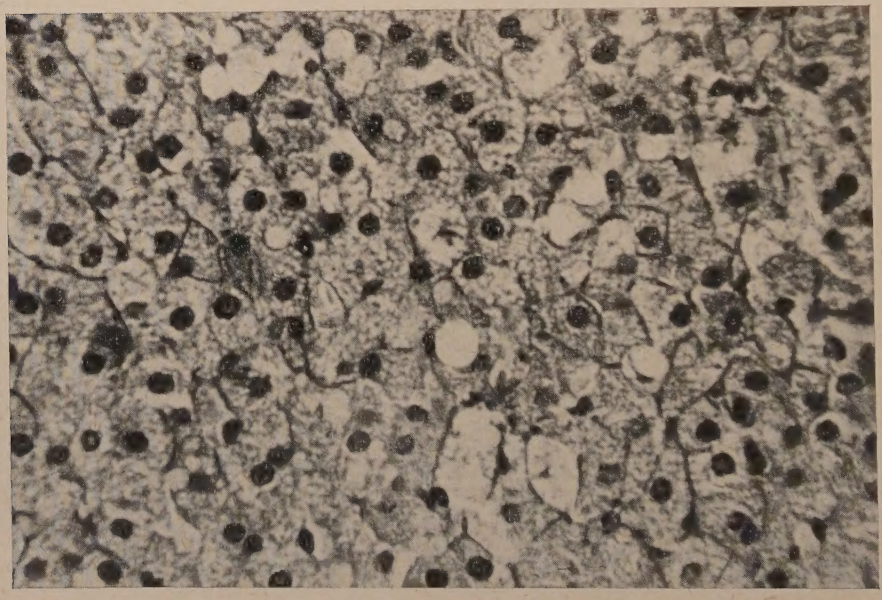

Fig. 4 - Animale I lotto - Fegato: fenomeni di patosi torbido grassa.

Tubo digerente e pancreas: Tutti i segmenti intestinali sono indenni sia a livello della mucosa e della sottomucosa, che dei linfonodi intramurali. Anche il pancreas non presenta nulla di patologico.

Reni e organi genitali: Modesta presenza di essudato nella capsula glomerulare. A carico dei tubuli si notano modestissimi fatti regressivi di tipo torbido-granuloso e presenza di albumina coagulata nel lume. Non figurano alterazioni stromali e vascolari degne di rilievo.

Gli organi genitali non presentano modificazione alcuna.

Surreni: Nulla di patologico.

Animali del 2° Lotto (trattati con criolisato batterico)

Gli esami istologici degli organi di questi animali hanno messo in evidenza modestissime alterazioni morfologiche che possono essere così riassunte:

Fegato: Modestissime note di patosi.

Milza: Iperplasia dei follicoli linfoidi e della polpa rossa.

Reni: Fatti degenerativi di lieve entità a carico del citoplasma delle cellule tubulari.

Nulla di patologico a carico degli altri organi.

Animali del 3° lotto (trattati con semplice liquido di Locke)

In alcuni di questi animali si ripetono, ancora meno evidenti, le pur scarse modificazioni istologiche che abbiamo descritte per quelli del 2° lotto; nel maggior numero degli animali sono del tutto assenti.

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Da quanto abbiamo esposto ci sembra di poter concludere che, nelle particolari condizioni sperimentali adottate per queste ricerche, il criolisato amebico, da noi preparato, iniettato per via endovenosa, ha provocato soltanto modificazioni a carico della milza e, in minor grado, a carico del fegato e del rene.

Riteniamo di poter affermare che le modificazioni, da noi messe in evidenza, sono legate, in massima parte, alla azione del criolisato di *E.histolytica*, in quanto negli animali inoculati con il criolisato della flora batterica presente nel liquido colturale (2° lotto) o con liquido di Locke (3° lotto), non si repertano alterazioni istologiche di qualche entità. Le lesioni riscontrate a carico degli animali del primo lotto sono risultate più accentuate in quei soggetti venuti a morte o sacrificati tra il 5° e il 20° giorno dall'inoculo.

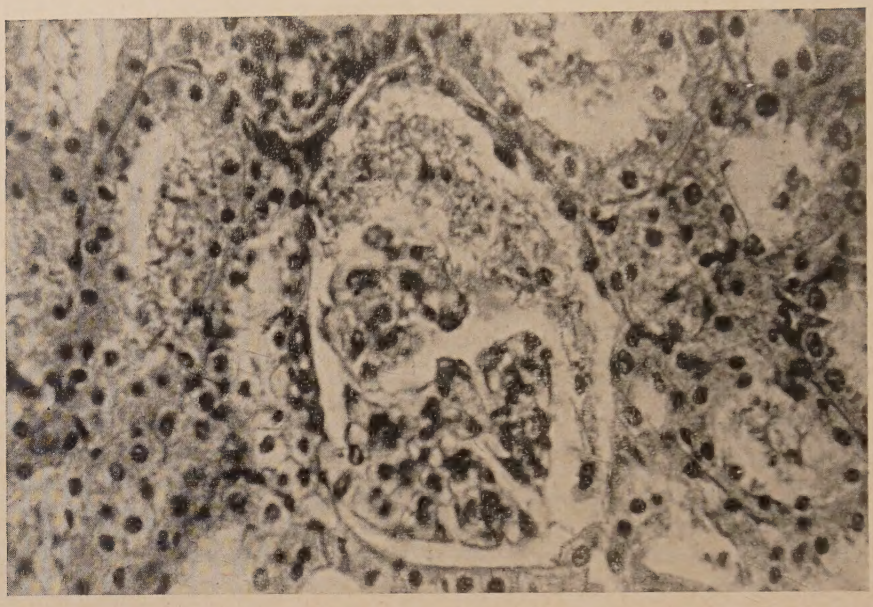

Fig. 5 - Animale I lotto - Rene: raccolta di materiale proteico nello spazio capsulare e spostamento delle anse glomerulari verso il polo vascolare Materiale della stessa natura nei tubuli circostanti.

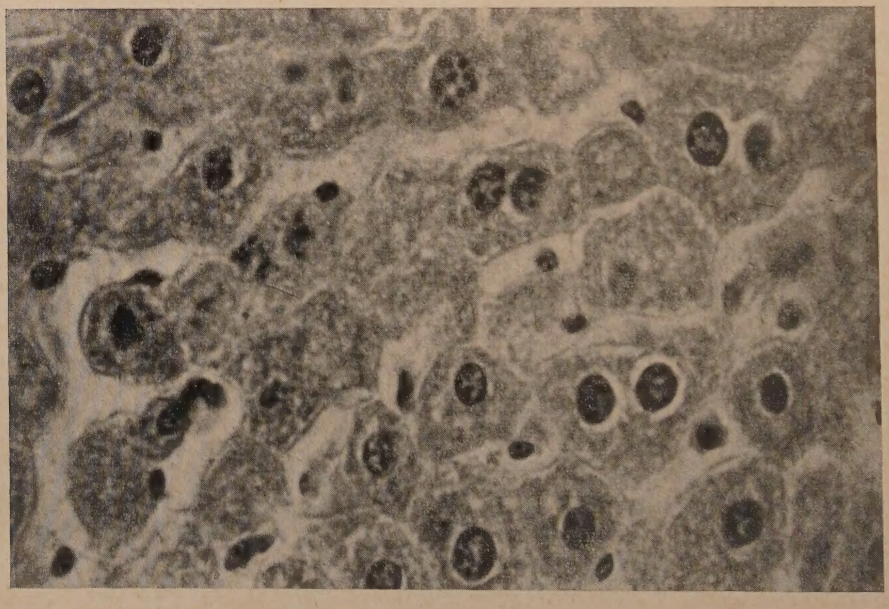

Fig. 6 - Animale II lotto - Fegato: normale struttura laminare unicellulare. Epatociti ben conservati e frequentemente binucleati.

Le alterazioni spleniche che sono le più costanti consistono, come si è già detto, in iperplasia dei follicoli linfoidi e della polpa rossa; quelle epatiche sono di grado modesto e incostanti e consistono in fenomeni torbido-grassi del citoplasma degli epatociti; quelle renali, infine, anch'esse non costanti, sono rappresentate soltanto da lievi fatti regressivi tubulari e da una alterata permeabilità del filtro glomerulare.

Non abbiamo riscontrato le alterazioni a carico del polmone e dell'intestino descritte da Buonomini e Mignani.

La differenza di reperti può essere, da un lato, attribuita allo stipite di *E.histolytica* usato (ceppo *Lero*) diverso da quelli adoperati da Buonomini e Mignani, e dall'altro, soprattutto, al materiale impiegato nelle prove in quanto i suddetti AA. hanno usato trofozoiti e criolisati grezzi di *E.histolytica,* mentre noi ci siamo serviti esclusivamente di criolisati purificati mediante dialisi.

Possiamo pertanto concludere che l'antigene amebico, da noi impiegato, possiede una scarsa tossicità nel topo, almeno alle dosi e con le modalità descritte.

L'insieme delle modificazioni riscontrate a carico della milza (iperplasia follicolo-pulpare) e del fegato (iperplasia delle cellule di Kupffer) possono essere interpretate come l'effetto di una reazione del mesenchima attivo alla introduzione di proteine eterogenee.

Se poi tali modificazioni debbano essere intese come una risposta specifica del sistema istiocitario verso i criolisati di trofozoiti di *E.histolytica,* ovvero come una reazione aspecifica alla introduzione di proteine eterogenee, non possiamo affermare o negare in base ai risultati in nostro possesso.

Poiché, a nostro avviso, il problema merita di essere più profondamente studiato, sono in corso ulteriori ricerche sull'argomento.

THE HISTOPATHOLOGICAL PICTURE ON INOCULATION OF PURIFIED CRYOLYSATES OF *ENTAMOEBA HISTOLITICA.*

The pathogenic action of purified cryolysates from trophozoites of cultures of *E. histolytica* (Lero strain) has been studied on endovenous inoculation into white mice. The anatomical-histological lesions produced, particolarly in the spleen and to a lesser extent in the liver and kidney, are described. The changes in the spleen consisted of hyperplasia of the lymphoid follicles and red matter. The hepatic changes consisted of slight fatty turbidity of hepatocyte cytoplasma, and the renal ones of regressive phenomena of the tubules and an altered permeability of the glomerular filter. The overall picture was of a reaction of the active mesenchyme to the introduction of foreign protein. It is concluded that the amoebic cryolysate used had little toxicity.

BIBLIOGRAFIA

BUONOMINI G., MIGNANI E. (1959): Azione patogena sperimentale di *E. histolytica* - *Giorn. Mal. Infett. Parass.*, II, 961.

DE BLASI R., MAGAUDDA-BORZI' L. (1958): La sierologia dell'Amebiasi: 1) Moderne prospettive nel campo pratico e dottrinario - 2) La deviazione del complemento. *Riv. Parass.*, 19, 267.

MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1958): La sierologia dell'Amebiasi: 3. Valutazione comparativa di alcuni antigeni grezzi estratti da *E. histolytica* con varie metodiche - *Arch. It. Sci. Med. Trop. Parass., 39,* 616.

MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1958): La sierologia dell'Amebiasi: 4. La sensibilità delle tecniche di Kolmer e di Bozicevich nella deviazione del complemento. *Atti del 6° Congresso, Sez. Reg. Sic. dell'A.I.I.S.P. Ragusa 14-15 Novembre 1958.*

MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1960): La sierologia dell'Amebiasi: 5. Studio di nuovi antigeni grezzi estratti da *E. histolytica* - *Parassitologia, II,* 207.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 2 - Giugno 1961

PRIMO FOCOLAIO DI LEISHMANIOSI CANINA IDENTIFICATO NELLA CITTA' DI SASSARI DOPO LA LOTTA ANTIANOFELICA

ARTURO CARTA (*)

In Sardegna la leishmaniosi del cane non era stata più repertata dopo la campagna antianofelica condotta col D.D.T., la quale, come è noto, liberò l'Isola dalla malaria e da altre malattie protozoarie. Pertanto viene illustrato un caso nuovo della malattia in un cane dell'età di 6 anni circa, nato ed allevato in un vecchio quartiere della città di Sassari (S. Donato) e sacrificato, per volontà del proprietario, a causa di un eczema cronico di cui l'animale da alcuni anni soffriva. La segnalazione vuol mettere in rilievo il pericolo di nuovo esistente per la salute dell'uomo ed in particolar modo del bambino con la ricomparsa della malattia nel cane.

E' noto che la campagna antianofelica condotta in Sardegna subito dopo la seconda guerra mondiale si concluse felicemente con l'eradicazione oltreché della malaria di alcune altre malattie protozoarie dell'uomo e degli animali, come, per es., della leishmaniosi, delle piroplasmosi, ecc..

Deiana ed Arru (1) al 1° Congresso della Società Italiana di Parassitologia segnalarono appunto la scomparsa in Sardegna delle piroplasmosi dei bovini, degli equini, dei suini, ecc., perfino nei comprensori dell'Isola ove prima erano comunissime. Ma gli AA. misero in particolare rilievo che nonostante la trasformazione fondiaria attuata in quest'ultimo decennio proprio nei suddetti comprensori, gli agenti vettori — ixodidi — erano sempre presenti e che quindi le piroplasmosi non si dovevano considerare definitivamente eradicate

Orbene quanto detto per le piroplasmosi valeva anche per la leishmaniosi, tanto più perché la maggior parte dei luoghi dove in passato si verificava la malattia, non subirono alcuna trasformazione e rimasero tali quali erano.

La leishmaniosi canina prima del 1946 — anno in cui si intraprese la grande campagna antianofelica col D.D.T. — era comunissima nei vecchi quartieri della città di Sassari (S. Donato, S. Sisto, ecc.).

(*) *Istituto di Patologia Generale ed Anatomia Patologica Veterinaria dell'Università e Centro di Studio del C. N. R. per la Parassitologia Veterinaria* (Direttore: Prof. A. Carta).

Nel 1938 illustrai (2) le alterazioni morfologiche di 12 milze di cani randagi catturati a Sassari negli anni 1936 e 1937, sacrificati per le esercitazioni degli studenti e casualmente trovati parassitati da *Leishmania donovani;* di 3 milze di cani con leishmaniosi ed uncinariosi (*Uncinaria stenocephala*) nati, allevati, infestatisi e naturalmente morti a Sassari, e e di una milza di cane con leishmaniosi e filariosi associate ed anch'esso nato, allevato, infestatosi e naturalmente morto a Sassari, mettendo in rilievo le differenze registrate nei tre gruppi considerati.

Nel 1939 illustrai (3) le modificazioni anatomo ed istopatologiche del midollo osseo, dei linfonodi e del fegato dei gruppi di cani prima menzionati e di un altro soggetto con leishmaniosi ed uncinariosi associate, capitato all'osservazione nel corso dell'anno accademico 1939-1940.

Infine nel 1942 pubblicai (4) un caso di poliartrite cronica da *Leishmania infantum* con interessamento, oltreché delle maggiori stazioni del sistema reticolo istiocitario (milza, fegato, linfonodi, midollo osseo, cute, ecc.), *del territorio reticolo-istiocitario delle articolazioni.*

Altri casi capitarono alla mia osservazione dopo il 1942.

Per quel ch'io ricordo nessun caso di leishmaniosi del cane repertai però in quest'ultimo decennio nonostante che il numero dei soggetti sottoposti a necroscopia sia andato sempre aumentando specie per l'indirizzo dato a particolari ricerche come, per es., le indagini sistematiche sulla diffusione dell'echinococcosi e di altre elmintiasi intestinali del cane in Sardegna per le quali furono sacrificati e sottoposti a necroscopia diverse centinaia di soggetti.

La segnalazione di un nuovo caso di leishmaniosi nel cane osservato nel corrente anno non è priva di qualche interesse specialmente ai fini pratici dato che richiama l'attenzione sulla ricomparsa della malattia proprio in luoghi dai quali era stata eradicata.

Trattasi di un cane di razza spinone incrociata, maschio, di anni 6 circa, in buone condizioni di nutrizione, affetto da una grave forma di eczema squamoso (furfuraceo) alla regione delle orecchie, del dorso, degli inguini, dei carpi, ecc.. Piccole ulcerazioni, coperte da croste emorragiche, interessavano la superficie esterna ed i bordi dei padiglioni auricolari.

L'animale ci fu consegnato il 6-5-1961 dall'accalappiacani comunale di Sassari per abbatterlo, e dallo stesso accalappiacani apprendemmo che proprietario era il Sig. N. B., coltivatore diretto, abitante in un vecchio quartiere di Sassari (Vicolo S. Donato).

Rintracciammo il proprietario ed apprendemmo che l'animale gli fu regalato, orsono circa 6 anni, all'età di 3 mesi; che nacque e fu allevato a Sassari; che fu addestrato alla caccia; che quasi giornalmente veniva

condotto in un predio sito a 1 Km circa dall'abitato di Sassari (regione Santucciu); che da circa due anni presentò in varie parti del corpo depilazioni (eczema squamoso); che le zone depilate quasi giornalmente venivano lavate con acqua e sapone neutro; che, infine, ritenuta la malattia cutanea inguaribile e considerata l'età già avanzata dell'animale, giunse nella determinazione di disfarsene consegnandolo allo accalappiacani per l'abbattimento.

Il cane fu sacrificato il giorno stesso in cui ci venne consegnato e fu sottoposto a necroscopia subito dopo la morte.

Oltre alle alterazioni cutanee prima dette, le quali fin da quando l'animale era in vita attrassero la nostra attenzione facendoci sospettare l'infestazione leishmaniosica, all'apertura della cavità addominale riscontrammo che minuscoli frammenti di tessuto splenico erano disseminati nell'omento, che risultò tenacemente saldato a mezzo di briglie connettivali al bordo inferiore della milza. Staccato l'omento dalla milza questa risultò con bordi irregolarmente frastagliati e con una profonda solcatura trasversale, biancastra, di natura connettivale, nella superficie in prossimità del terzo posteriore dell'organo. Trattavasi di fenomeni cicatriziali e molto verosimilmente dovuti a vecchie lesioni traumatiche.

Al taglio la milza risultò più consistente della norma per maggior compattezza dello stroma reticolare e con follicoli iperplastici. Ed appunto la particolare consistenza del parenchima splenico e l'iperplasia follicolare rafforzarono il sospetto che si fosse in presenza di un caso d'infestazione leishmaniosica.

Il fegato risultò leggermente più grosso della norma; ma, colorito, consistenza, aspetto delle superfici di sezione, non risultarono modificate.

Dalla polpa splenica, dal fegato, dal midollo osseo dello sterno, dalle porzioni di cute eczematose furono allestiti preparati per strisciamento che colorammo col May Grunwald-Giemsa.

L'esame microscopico confermò la diagnosi di leishmaniosi.

Le leishmanie risultarono in numero piuttosto scarso (da 1 a 10 esemplari per istiocita) e scarsi risultarono anche i macrofagi parassitati (nella milza 2-3 macrofagi ogni 5-10 campi microscopici).

Nel lume intestinale si repertarono una decina di esemplari di *Uncinaria stenocephala* ed alcuni esemplari di *Dipylidium caninum*, elminti, ai quali, in considerazione del limitato numero, non fu dato particolare valore eziologico.

Nulla di particolare interesse si riscontrò a carico degli altri organi e tessuti.

Orbene la segnalazione del caso illustrato ha lo scopo, come prima detto, di mettere in rilievo la ricomparsa della leishmaniosi del cane nella sua forma classica, sia clinica che anatomo-patologica, negli stessi luoghi ove si repertava in passato e quindi il reale pericolo ivi esistente anche per la salute dell'uomo e specialmente dei bambini.

THE FIRST FOCUS OF CANINE LEISHMANIASIS IDENTIFIED IN THE CITY OF SASSARI AFTER THE ANTI-ANOPHELINE CAMPAIGN.

The anti-anopheline campaign carried out in Sardinia with D.D.T., freed the island of malaria and other protozoal diseases of man and animals, such as leishmaniasis, pyroplasmosis etc.

Previously, leishmaniasis was widespread in Sardinia amongst man and dogs. Between 1938 and 1942 the author found 17 dogs affected with leihsmaniasis in the city of Sassari. Of these 12 had pure leishmaniasis, 6 had leishmaniasis and uncinariasis and 1 had leishmaniasis and filariasis. The pathologic findings in the spleen, liver, bone marrow and reticular histiocyte system, and joints (1 subject) are described for each group. No new cases have been found in the last ten years, although considerably more dogs were subjected to autopsy than in the past, particularly because of the special studies undertaken on the diffusion of echinococcosis in the island, for wich several hundred subjects were examined during these years.

The observation of the eradication of the disease from the dog applies equally to man and children; the author donot know of any report of new cases of cutaneous or visceral leishmaniasis in the island in these years.

However a new case of canine leishmaniasis came to the attention of the author in May of this year. This was a 6 years old dog born and reared in the old district of Sassary (St. Donato). The animal was killed on request of its owner. The subject was submitted to autopsy and smears of the spleen (which was larger than usual), liver, bone marrow, skin etc. were stained with May Grünwald-Giensa. Leishmaniae were only scantly distributed in all the organs and only 10 parasites were found for each histiocyte.

It is hoped that this report will stress the real danger existing for man, and particularly children, in the old district of Sassari through the reappearance of canine leishmaniasis.

BIBLIOGRAFIA

(1) DEIANA S. e ARRU E. (1960) - Sulla riduzione dell'indice di mortalità negli erbivori della Sardegna per malattie protozoarie ematiche. *Parassitologia, II,* 145-148

(2) CARTA A. (1958) - Osservazioni morfologiche su milze di cani con leishmaniosi e con leishhaniosi ed altre infestioni associate. *Il Nuovo Ercolani, 43,* 435-444.

(3) CARTA A. (1939) - Osservazioni morfologiche su midollo osseo, linfoghiandole e fegato di cani con leishmaniosi e con leishmaniosi ed altre infestioni associate. *Profilassi, XII,* 210-215.

(4) CARTA A. (1942) - Un caso di poliartrite cronica da *Leishmania infantum* osservato nel cane. *Studi Sassaresi, XX,* 201-210.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 2 - Giugno 1961

SUR L'INFESTATION EXPERIMENTALE DE LA SOURIS PAR *FASCIOLA HEPATICA*

E. Lagrange et A. Gutmann (*)

Les souris ayant ingéré des métacercaires de *F. hepatica* meurent en général endéans le mois, de distomatose aigüe av c d s lésions graves du fois. Toutefois, elles peuvent survivre un temps pratiquement illimité si les douves parviennent à atteindre le canal cholédoque où elles arrivent à maturité sexuelle après 33 jours. Cette distomatose chronique cause un minimum de dégâts anatomiques et s'accompagne de ponte de centaines d'oeufs par jour.

E. L. Taylor (1) a montré qu'on peut infester la souris par *Fasciola hepatica* en lui faisant ingérer des métacercaires en petit nombre à la sonde stomacale. Elles pénètrent dans la cavité péritonéale par effraction puis se dirigent vers le foie, dans lequel elles provoquent le plus souvent des lésions dramatiques, suivant le processus étudié chez le lapin par D. Sinitzin (2). Si les métacercaires sont vivantes, la souris meurt habituellement après un délai de 20 à 40 jours. A l'autopsie, on doit trouver les douves vivantes, soit dans la cavité péritonéale, soit dans le foie. Pour les trouver, on écrase le foie détaché entre deux plaques de verre, on enlève aux ciseaux le paquet intestinal et on l'agite dans un cristallisoir d'eau salée. On agite d'une part le foie écrasé, d'autre part le cadavre éviscéré dans un verre à pied rempli d'eau physiologique. Les douves se déposent au fond du vase. Il arrive cependant que ces tests sont inefficaces et que même en présence de lésions typiques et graves, on ne trouve aucune douve. Après étalement et extension spontanée sous un fragment de porte-objet qui appuie, sans les écraser, elles mesurent de 1,5 à 8 mm. de long d'après leur âge. Même dans cette situation inconfortable, elles restent vivantes pendant plusieurs heures.

La plus jeune que nous avons répérée était âgée de 10 jours et mesurait dans ces conditions 2 mm. de long. (ces dimensions n'étant qu'une approximation) avant la fixation au formol (v.p. loin).

Taylor recommande avec raison d'introduire les kystes de *Fasciola*

(*) *Institut Royal des Sciences naturelles, Bruxelles.*

avec une sonde de verre ayant la forme d'une pipette Pasteur à extrémité courte et rodée à la flamme, les kystes étant mis en suspension dans un mucilage et projetés dans l'estomac à l'aide d'une tétine de caoutchouc. On vérifie à la loupe si les kystes n'ont pas adhéré à la pipette.

Conservées au froid, (+ 4°) à l'ombre et dans l'humidité, les métacercaires restent vivantes, à coup sûr, pendant au moins trois semaines et sont susceptibles de se développer si elles ont au moins 6 jours depuis leur émission.

Les lésions sont variables: tantôt une inondation péritonéale par le sang, la bile ou un mélange des deux, provoquée par une déchirure mécanique dans le foie et accompagnée d'un fort oedème ictérique de la paroi abdominale, tantôt des segments de foie plus ou moins importants nécrosés ayant pris une coloration jaune tranchant sur la teinte brun-chocolat normale, tantôt un foie ayant pris en masse une teinte rose-clair. Parfois enfin la souris meurt, peut-être de cause étrangère sans présenter de lésions, avec ou sans parasites, soit qu'il y ait eu erreur de technique, soit que les kystes introduits n'aient pas évolué ou n'aient pas eu le temps d'exercer leurs ravages.

Les divers parasites injectés en même temps à la même souris atteignent des dimensions trés variables, la longueur en extension pouvant aller de 1,5 à 6 mm. dans les mêmes conditions; on peut donc facilement ne pas voir les plus petites si on ne pratique pas un examen attentif par les procédés signalés plus haut.

Au cours de nos essais, il nous est arrivé au début de voir survivre nos souris plus de 40 jours. Nous les avons alors exposées à l'infestation par *Bilharzia mansoni* (pour en tirer parti) et dans deux cas, nous avons constaté que tardivement elles émettaient des oeufs de *Fasciola* dans leurs déjections.

1*er cas*: Souris infestée le 8 août 1960 avec 19 autres dont 12 meurent de distomatose. Parmi les 8 survivantes, infestées ensuite de bilharziose, nous découvrons le 7 novembre, soit 91 jours plus tard et 49 jours après la deuxième infestation de nombreux oeufs de *Fasciola* et quelques oeufs de *Bilharzia* dans les déjections. Ces oeufs sont viables, comme l'a prouvé plus tard l'éclosion de miracidiums après les délais voulus. Ces miracidiums ont infesté des Limnées.

Le 24 novembre (soit après 108 jours) la souris en bonne santé apparente, qui continue à émettre des oeufs des deux parasites (*Fasciola* et *Bilharzia*) est sacrifiée. Le foie présente de nombreux tubercules de bilharziose et le canal cholédoque est fortement gonflé. Après l'avoir sectionné, on en fait sortir par une légère pression une douve gorgée, epaisse, enroulée sur elle-même suivant son grand axe. Les ovaires sont bourrés d'oeufs et le

cirre est nettement visible. Il est manifeste qu'elle a réussi en grandissant sur place à élargir le conduit dans lequel elle s'est trouvée enchâtonnée. Après étalement dans l'eau physiologique entre deux lames de verre, sans exercer de pression, elle mesure 16 × 8 mm. Le lendemain, elle s'est relâchée petit à petit et mesure 20 × 14 mm. dans les mêmes conditions. Dans le foie de la souris après écrasement, on trouve de rares oeufs de distome qui n'ont pas provoqué de réaction alors que les oeufs de *Bilharzia,* beaucoup plus nombreux, sont englobés dans les pseudotubercules caractéristiques. Pas d'autre douve.

2*e cas*: Une des 18 souris infestées le 11 octobre, dont 3 survivent, est trouvée positive le 16 novembre, soit 36 jours après infestation. Elle avait entretemps été infestée de Bilharziose le 12 novembre. On la trouve morte le 29 novembre soit 49 jours après l'infestation. Le foie est d'aspect normal, la rate un peu allongée. Dans le canal cholédoque, un léger renflement d'où, après incision, nous retirons une douve. Mise entre 2 lames de verre, elle mesure 13 × 4,5 mm. Une heure après, elle s'est allongée et élargie, 14,5 × 5 cc.; enfin, 3 heures après, elle mesure 17 × 5 mm. C'est dire que les mensurations n'ont de valeur que dans la mesure où on en précise les conditions. On la fixe au formol en la laissant entre les deux lames de façon à éviter toute rétraction et toute déformation. On n'a pas trouvé de lésion précise expliquant la mort. Pas d'autre douve.

En pratiquant des examens répétés de leurs déjections sur les souris ayant reçu des kystes à la sonde stomacale, nous en avons trouvé plusieurs positives avec un délai minimum de 33 jours. Elles avaient reçu plusieurs métacercaires et n'avaient pas été exposées à d'autres infestations.

Voici un relevé sommaire de nos observations.

3*e cas*: Souris infestée le 16 novembre et une deuxième fois le 25 novembre. Trouvée positive le 20 décembre. Le lendemain, elle est trouvée mourante et sacrifiée. Dans le canal cholédoque, on trouve 6 *Fasciola* dont deux avec ovaires remplis d'oeufs et cirre évaginé; elles mesurent après étalement et en extension 10 à 9 mm. de long. 4 autres douves non adultes mesurent 7, 7, 6 et 5 mm. de long.

Dans le foie très abîmé, on trouve encore 8 douves, la plus grande de 10 mm. de long (également avec ovaires bourrés d'oeufs, mais le cirre n'est pas évaginé) les autres mesurent respectivement 9, 6, 6, 6, 5, 4, 4, 3 mm. de long, toutes ces mesures ayant été prises aussitôt après étalement entre 2 lames.

4*e cas*: Du même lot que le précédent, (de 12 souris), une souris trouvée également positive le 20 décembre et trouvée morte le 28 décembre.

On trouve dans le canal cholédoque deux douves vivantes, l'une à maturité sexuelle mesurant d'abord 8 × 5,5 et 3 heures plus tard, 10,5 × 5,5 mm. et une autre immature de 6 × 3,5 mm.

Dans le foie très abîmé, une douve adulte de 9 × 5 mm. et dans le foie et dans la cavité péritonéale (trouvées par agitation dans un verre à pied) 4 immatures de 5 × 3 et une de 2 × 2 mm.

5*e cas*: 5 souris sont infestées le 4 novembre et une seconde fois le 25 novembre de métacercaires. 4 d'entr'elles meurent du 28 novembre au 6 décembre.

La survivante, examinée le 20 décembre, est positive et sacrifiée mourante le 27 décembre. A l'ouverture de l'abdomen, on constate une inondation péritonéale. Le foie est roux, ficelé et dur. La vésicule est grosse comme un pois, remplie d'un liquide noir, visqueux, bourré d'oeufs de *Fasciola*. Le canal cholédoque est enflé comme s'il contenait un grain de riz. Par une boutonnière, on en exprime six douves vivantes qui aussitôt après étalement entre deux lames mesurent

10,5	10	5	4	4	3,5 mm. de long
6	5,5	4	2,5	3,5	2,5 mm. de large.

Les deux premières ont des organes génitaux bien développés et trois heures plus tard sont passées respectivement à 14 × 8 et 16 × 7 mm., les plus petites n'ayant guère augmenté de volume. Dans le foie et dans le paquet intestinal on trouve 1 et 2 douves mesurant 4,5 × 3 mm.

Les oeufs contenus dans le liquide de la vésicule biliaire sont recueillis, lavés et mis en incubation. Le 11 janvier, sur quelques oeufs prélevés, nous obtenons quelques miracidiums, soit après une incubation de 15 jours; quelques jours plus tard, éclosion abondante.

5 autres souris ont été observées avec une localisation dans les voies biliaires de douves sexuellement mûres, et dont les déjections présentaient depuis un temps plus ou moing long des oeufs du parasite.

Voici leur histoire en bref:

n. 6 - Morte ainsi que les deux suivantes au cours d'une épizootie de pseudo-tuberculose des rongeurs. Foie très décoloré. Une douve vivante dans le c. cholédoque, dont la paroi est très épaissie. Elle mesure aussitôt après étalement 14 × 9,5 mm. La vésicule est blanche. Le liquide laiteux qu'elle contient ne montre que de rares oeufs. Même à ce moment, les déjections de la souris sont encore positives, quoique beaucoup moins riches que précédemment.

n. 7 - Morte avec 2 douves à maturité sexuelle dans le c. cholédoque,

mesurant respectivement à frais 13 × 7,5 et 11,5 × 7 mm. La vésicule biliaire contient de la bile et de nombreux oeufs.

n. 8 - Morte avec 2 douves à maturité sexuelle dans le c. cholédoque, mesurant respectivement à frais 12 × 8 et 10,5 × 7,5 mm. Grosse vesicule bourrée d'oeufs. Présente un tournis qui nous oblige à la sacrifier.

n. 9 - Sacrifiée mourante. Dans le c. cholédoque, 5 douves sexuellement mûres, vivantes et gorgées, mesurant pour 4 d'entre-elles 8 × 5 mm. et une de 7 × 5 mm. à frais. Le lendemain, elles atteignaient 13 et 11 × 7 mm. Le foie est jaune-brun, la vésicule noire et grosse comme un petit pois, bourrée d'oeufs et d'un sable fin jaune d'or. Dans le lobe droit, un petit abcès. Ces 2 souris faisaient partie d'un lot de 10 souris infestées en même temps, soit 20% de localisations dans la vésicule.

n. 10 - Morte avec une douve de 11 × 8 mm. dans le c. cholédoque. 48 h. après, elle mesure 16 × 9 mm. Foie normal, avec très grosse vésicule ne contenant pas d'oeufs.

TABLEAU 1

	Date d'infestation	trouvées positives le	soit après	mortes le	soit après	douves mûres	foie lésé
1	8/8/60	7/11	91 j	24/11 S	108 j	1	—
2	11/60	11/11	36	29/11	49	1	—
	16/11						
3	24/11	20/12	35	21/12	36	6+1	+
4	id.	20/12	35	28/12	43	2+1	+
	4/11						
5	25/11	20/12	46	27/12	53	2	+
6	25/11	5/1	41	25/3	120	1	×
7	25/11	28/12	33	20/3	150	2	×
8	5/1	8/2	34	20/3	69	2	×
9	5/1	8/2	34	22/2	48	5	—
10	18/1	21/2	34	11/3	53	1	—

S = sacrifiée en bon état de santé apparente.
\+ = Lésions mécaniques.
× = Lésions toxiques (décoloration).
— = pas de lésions.

Comme on le voit, le résultat de l'ingestion de métacercaires est très variable; depuis la mort rapide jusqu'à la survie avec douves logées et emprisonnées dans le canal cholédoque ou sans douves si les kystes n'étaient pas viables.

* * *

Il nous parait intéressant d'étudier de plus près les souris porteuses de douves adultes.

On pouvait penser que l'ingestion d'une seule métacercaire avait plus de chances de permettre la survie en limitant les dégâts. Aussi, avons-

nous injecté *per os* le 8 décembre 1960 à quinze souris blanches d'élevage une métacercaire, conservées seulement 12 jours au frais (± 5°) dans un flacon de verre brun fermé et contenant de l'ouate mouillée, c'est-à-dire dans les conditions optima. Nous n'avons injecté que des kystes à coloration jaune nette, évitant ceux qui sont demeurés blancs on incolores et nous avons soigneusment vérifié l'injection des kystes.

Le résultat peut se résumer dans le tableau suivant:

TABLEAU 2

Souris:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
morte le	31-12	2-1	2-1	2-1	2-1	4-1	6-1	10-1	13-1	17-1	20-1	13-2	15-2	20-2	27-2
trouvé la douve vivante	+	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
foie lésé	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
inondation péritonéale	—	—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
oeufs trouvés dans les déjections	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Il faut noter:

1) que pendant toute la période d'observation, le lot dont faisaient partie les souris en expérience n'a pas présenté de mortalité spontanée; ceci pour expliquer les cas 8, 10 et 11;

2) que dans les autres expériences faites avec plusieurs kystes dans des conditions comparables à celles-ci, la mortalité atteignait jusque 100%, sauf lorsque les douves arrivent à se localiser dans le canal cholédoque, et qu'il nous est arrivé aprés injection de 4-5 kystes et en présence d'un foie fortement lésé, voire en présence d'une inondation péritonéale de ne pas trouver de douve à l'autopsie (comme dans les cas 2, 3 et 9);

3) que la mort par inondation péritonéale de sang ou de bile est fréquente chez la souris infestée de distomatose. Le fait que la douve circule à l'aveugle dans la masse du foie l'expose évidemment à déchirer des vaisseaux aussi bien que des canaux biliaires intra ou extrahépatiques sans qu'il faille pour cela invoquer un tropisme particulier;

4) que l'infestation par un seul kyste, contrairement à notre attente, ne nous a donné (sur 15 souris) aucun cas de localisation dans le canal cholédoque;

5) que le fait de se trouver dans le canal cholédoque, donc en contact direct avec la bile coïncide avec la maturité sexuelle de la douve. Nous n'avons trouvé que deux douves arrivées à maturité sexuelle (sur 23) dans le foie lui-même (3e et 4e cas). On n'a pas recherché si elles se trouvaient ou non dans un conduit biliaire. Au même âge (30 à 35 jours) les douves immatures trouvées dans le foie et les douves mûres trouvées dans le

canal cholédoque ont une difference de taille considérable, surtout en épaisseur.

6) que dans plusieurs cas, il n'est pas démontré que la mort soit dûe à la distomatose. A certains moments, nombre de souris saines présentent une mortalité assez élevée, dont certaines par pseudo-tuberculose des rongeurs (diagnostic du laboratoire central vétérinaire).

* * *

On sait le rôle considérable joué par les rongeurs en général dans la transmission des maladies parasitaires et microbiennes. Sans vouloir mettre en cause le cycle classique bien établi et prépondérant de la distomatose (*Lymnaea truncatula* - ovins et bovins), il est intéressant de constater que des rongeurs les plus variés, infiniment plus vagabonds que le bétail, peuvent accidentellement disséminer les oeufs de distomes et être ainsi à l'origine de nouveaux foyers. Les souris même en captivité et bien nourries raffolent de l'herbe. Il est donc tout naturel qu'elles puissent s'infester dans la nature en broutant de l'herbe ou du cresson contaminé et à l'occasion devenir temporairement des « porteurs sains » et des transmetteurs de distomatose.

Sans prétendre épuiser la littérature, relevons les 3 références suivantes:

G. Dikmans (3) signale 2 spécimens de *F. hepatica* dans les canaux biliaires d'un lapin qui serait le premier cas signalé aux Etats-Unis.

W. H. Krull (4) observe chez les souris sauvages (*Peromyscus*) des douves après infestation expérimentale. Toutes sauf une sont mortes dans les 38 jours. Une de ces souris avait quelques oeufs dans l'utérus. La survivante a été autopsiée après trois mois d'observation. L'auteur a ensuite injecté 1 kyste à quelques souris. Il ne semble pas qu'il ait poursuivi ou publié ses résultats.

S. Y. Li (5) a trouvé 2 douves mûres dans le foie d'un rat noir à Formose. Aucun de ces auteurs ne semble avoir examiné les déjections des animaux observés. Seul Krull se demande, mais sans donner la réponse, quel pourrait être l'intérêt épidemiologique de cette constatation. Cet intérêt résulte clairement de ce qui précède. Telle souris a pu émettre pendant des semaines plusieurs centaines d'oeufs de douve par jour.

Olsen (6) aux Etats-Unis a fait en 1948 une étude plus approfondie de la question et rappelle que Thomas dès 1883 constatait la fréquence de la fasciolase chez les lapins sauvages dans la région d'Oxford où il travaillait. Les douves trouvées, jusqu'à 40 et 50 chez un lapin, devaient être sexuellement mûres, puisqu'il considérait la suppression des douves comme impossible tant qu'il y aurait des lapins et des lièvres dans les régions infestées.

Olsen constate chez des lièvres la présence simultanée de specimens mûrs et non mûrs. La grande majorité toutefois des douves trouvées dans le foie sont sexuellement mûres.

L'observation de ces jeunes douves immatures chez la souris est intéressante à un autre point de vue. On a beaucoup discuté sur la nutrition des douves trouvées dans le voies biliaires du bétail. Railliet (7), W. Müller (8) Weinland et von Brand (9) et bien d'autres ont abordé ce problème à l'aide de techniques diverses et abouti à des conclusions divergentes. Sans vouloir trancher la question, il nous est permis d'affirmer:

1) Que chez la souris les jeunes douves se nourissent de sang, que celui-ci noircit rapidement dans les culs-de-sac de l'appareil digestif et est éliminé, les douves ont alors l'appareil digestif complètement vide, soit qu'elles soient trouvées vivantes dans le coelôme ou dans le foie; ces stades successifs de la digestion peuvent d'ailleurs s'observer in vitro en très peu de temps à faible grossissement;

2) Que les douves arrivées à maturité sexuelle et enclavées dans un endroit bien déterminé du canal cholédoque doivent se nourrir sur place soit du contenu du canal qui passe à leur portée soit en se fixant à la paroi distendue du canal, toute migration vers l'intérieur du foie leur étant impossible (au moins dans le cas n. 1) du fait de leurs dimensions.

Le matériel fourni par les souris distomateuses est donc un matériel de choix pour reprendre cette question.

Le cycle de la douve, chez l'hôte définitif, comme le dit Dawes (10), semble d'autant plus court que l'hôte est plus petit. Ainsi Schumacher (11) constate l'arrivée de la douve dans les conduits biliaires après 56 jours chez le mouton, après 49 jours chez le cobaye et le lapin. Nous l'y trouvons dès le 33e jour chez la souris; la maturité sexuelle avec ponte d'oeufs trouvés dans les crottes de souris en rend témoignage.

En résumé, la souris peut résister pendant un temps pratiquement illimité à l'ingestion de métacercaires de *Fasciola hepatica*, soit qu'elle arrive à se débarrasser d'une métacercaire unique soit que dans une infection multiple toutes les douves viables se localisent dans le canal cholédoque. Cette partie terminale des voies biliaires est en somme la seule qui se prête à héberger des parasites de dimension. Sur 23 douves trouvées dans le c. cholédoque, nous avons cependant 2 exceptions où des douves sexuellement mûres ont été trouvées dans le foie, à côté de 283 n'ayant pas atteint leur maturité sexuelle.

Une fois logée dans le c. cholédoque, la douve ne produit plus de lésions mécaniques, et n'exerce qu'à longue échéance une action toxique.

Il est remarquable que sur 15 souris ayant reçu 1 métacercaire, chez aucune, la douve n'a été se loger dans le cholédoque, alors que tel lot in-

jecté de plusieurs métacercaires à eu jusqu'à 2 sur 10 infestations du cholédoque.

La dernière partie de nos essais a été troublé par une épizootie de pseudo-tuberculose des rongeurs.

Nous tenons à remercier vivement le Dr. E. L. Taylor pour les conseils qu'il nous a donnés en nous initiant à l'elevage des limnées.

SULL'INFESTAZIONE SPERIMENTALE DEL TOPINO CON *FASCIOLA HEPATICA*

Il topino infestato per via boccale con poche metacercarie di *F. hepatica* muore in genere entro 4-5 settimane con gravi lesioni del fegato ed eventualmente con riempimento peritoneale di sangue e di bile o di sola bile. Piccoli distomi sessualmente immaturi vengono trovati nel fegato e nella cavità peritoneale.

L'ingestione di una sola metacercaria può talvolta essere insufficiente a provocare l'infestazione. Quando il topino sopravvive almeno 33 giorni, si possono trovare nel coledoco uno o più distomi sessualmente maturi. In tal caso, per un periodo illimitato, essi emettono centinaia di uova ogni giorno che si ritrovano nelle feci o raccolte nella vescicola biliare, provocando leggerissime modificazioni anatomiche e avallando il coledoco dove restano prigioniere. In simile contingenza la morte del topino può essere procrastinata indefinitamente, ed essa è assai probabilmente dovuta ad altre cause

ON THE EXPERIMENTAL INFESTATION OF THE MICE BY *FASCIOLA HEPATICA*

Mice infected by mouth with a few metacercariae of *Fasciola hepatica* usually die within 4-5 weeks with severe lesions of the liver and eventually peritoneal inundation with blood and/or bile. Small flukes sexually immature are found in the liver and in the peritoneal cavity.

Ingestion of a single metacercaria may sometimes prove insufficient to provoke infection. When the mice survive at least 33 days, one or several flukes sexually mature may be found in the ductus choledocus.

Thence, for an unlimited period, they emit hundreds of eggs a day which are found in the faeces or collect in the biliary vesicle, producing very slight anatomical disturbances, enlarging the ductus choledocus where they remain captive.

The death of the mouse in such circumstances may be delayed indefinitely and is most probably due to other causes.

BIBLIOGRAPHIE

(1) TAYLOR, E. L. (1961): Communications personnelles. Le test souris pour la distomatose est évoqué dans le rapport de l'auteur au XIVe congrès international vétérinaire, vol. 2 en 1949, et précisé dans le *Trans. Amer. Micros. Society* par TAYLOR E. L. et PARFIIT J. W., T. 76, juillet 1957.

(2) SINITZIN D. F. (1914): *Centralbl. f. Bakt. Orig. I. T., 74,* 280-286.

(3) DIKMANS G. (1930): *Jl. of parasitology, 116,* 162.

(4) KRULL, W. H. (1933): *Jl. of parasitology, 20,* 99.

(5) LI S. Y. (1952): *Jl. of parasitology, 51,* 88.

(6) CLSEN O. W. (1948): *Jl. of Parasitology, 34,* 119.

(7) RAILLIET A. (1890): *Bull. Soc. Zool. France, 15,* 88-92.

(8) MULLER W. (1923): *Zool. Anzeiger., 57,* 273-281.

(9) WEINLAND E. et v. BRANDT. (1926): *Zeitschrift f. Vergleichende Physiologie, 4,* 214-285.

(10) BEN, DAWES: The Trematoda. (1948).

(11) SCHUMACHER W. (1939): *Zeitschr. 10,* 608-643.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 2 - Giugno 1961

SULL'IMPIEGO DI UN TEST ALL'O-TOLIDINA PER LA RAPIDA ESECUZIONE DEI CONTROLLI DELLE URINE NEL CORSO DI TRATTAMENTI DI MASSA DELLA SCHISTOSOMIASI VESCICALE

GIOVANNI BARUFFA (*)

Nel tentativo di ricercare un metodo di controllo rapido dell'ematuria in individui sottoposti ad un esperimento di terapia di massa della schistosomiasi vescicale, sulle urine di 48 pazienti è stata contemporaneamente eseguita la ricerca dell'ematuria sia con il metodo abituale sia impiegando il test delle compresse all'O-tolidina (Occultest). Con quest'ultimo metodo 18 dei campioni di urine, ematurici all'esame microscopico, hanno dato un test negativo; per cui si conclude per la non perfetta attendibilità di esso nell'esecuzione dei controlli urinari nel corso dei trattamenti di massa della schistosomiasi vescicale.

Nel biennio 1959-1960 il Servizio Sanitario della Società Agricola Italo Somala (S.A.I.S.) ha posto in atto un vasto esperimento di terapia di massa della schistosomiasi vescicale, mediante l'impiego dapprima del sale potassico (TWSb/1) e successivamente del sale sodico (TWSb/6) del dimercaptosuccinato di antimonio, allo scopo:

1) di saggiare la tolleranza, l'efficacia terapeutica e i limiti e possibilità di impiego del TWSb nell'esecuzione di trattamenti di massa su pazienti ambulatori in zone di alto o altissimo indice di infestazione;

2) di arginare e contenere una infestazione, che, incrementatasi enormemente a seguito dei vasti lavori di irrigazione effettuati nel comprensorio S.A.I.S., ha raggiunto ora tra i lavoratori addetti alle piantagioni di canna da zucchero e tra i loro familiari viventi nell'ambito del comprensorio una altissima incidenza. In certi villaggi della zona infatti la percentuale di individui affetti da schistosomiasi vescicale si aggira su 95-98%.

Ora in ogni esperimento di terapia di massa della schistosomiasi vescicale un ruolo di primo piano è svolto da controllo microscopico del sedimento urinario, controllo che in caso di negatività è tanto più probativo per l'efficacia del trattamento quanto più è prolungato nel tempo.

(*) *Servizi Sanitari della S.A.I.S. Villaggio Duca degli Abruzzi (Somalia).*

Il nostro metodo abituale di controllo è il seguente:

— prelievo delle urine durante le ore di lavoro (più facile riscontro di ematurie anche piccole) mediante recipienti di materia plastica a chiusura ermetica, opportunamente numerati e provvisti a un centimetro dal fondo di un segno corrispondente a una quantità di liquido di circa 15 cc. (il contenuto di una provetta da centrifuga);

— aspirazione mediante pompa ad acqua dell'urina al di sopra del segno summenzionato; l'urina residua viene trasferita nelle provette per la centrifugazione che si effettua mediante una grossa centrifuga capace di venti provette ad una velocità di 2.000 giri al minuto per cinque minuti;

— aspirazione mediante pompa ad acqua dell'urina nelle provette avendo cura di conservare due-tre cc. di sedimento;

— osservazione del sedimento a piccolo ingrandimento su un vetrino da orologio: se il sedimento è troppo denso e ricco di elementi corpuscolati, muco, precipitati ecc. lo si diluisce con acqua distillata. Quest'ultima operazione è di routine nell'effettuazione del « forced hatching » per provocare la schiusa delle uova vive. In questo caso al sedimento vengono aggiunti 5 cc. di acqua distillata, si agita la provetta per ottenere la mescolanza e, quando possibile, la si espone per un'ora alla luce solare diretta allo scopo di accelerare la schiusa che generalmente entro tale limite di tempo è completa.

Calcolando che per ogni paziente trattato e seguito per almeno un anno si effettuano in media una quindicina di controlli delle urine non è chi non veda l'imponente mole di lavoro per chi, come nel caso nostro, si trova a dover seguire oltre un migliaio di persone. Se poi si considera anche lo scarso spirito di collaborazione proprio di chi non si rende conto del valore dell'esperimento cui è sottoposto, e quindi la necessità di recarsi da un villaggio all'altro alla ricerca degli individui trattati, si comprenderà facilmente come il tutto implichi un notevole dispendio di tempo.

Ciò premesso, è evidente il nostro vivo interesse per la ricerca di un metodo di analisi dell'urina che, salva restando la massima obbiettività, consentisse una rapida esecuzione dei controlli.

Sapevamo per esperienza che un'ematuria microscopica in un bilharziosico, anche se di modestissime proporzioni, si accompagna sempre ad emissione di uova vive o morte e che, d'altra parte, non si ha emissione di uova senza ematuria; per cui un bilharziosico non si può considerare guarito fintanto che è presente, anche se in proporzioni ridotte, l'ematuria. Abbiamo quindi voluto provare se rispondeva allo scopo il metodo di ricerca dell'ematuria a mezzo delle compresse di « Occultest » (*) basate sulla reazione dell'O-Tolidina (**).

(*) Ames Company (London) Ltd. - Nuffield House - London W. 1. England.

(**) L'uso di quest'ultimo prodotto in sostituzione della benzidina per la ricerca del sangue occulto nelle feci era stato già raccomandato alcuni decenni fa. Il test tuttavia non trovò subito accoglienza perché considerato troppo sensibile; senonché, essendo state dimostrate le proprietà cancerigene della benzidina, è diventato sempre più difficile procurarsi questa sostanza a causa della pericolosità della sua preparazione.

La ricerca dell'ematuria mediante le compresse di « Occultest » si effettua nel seguente modo: si fà cadere una goccia di urina non centrifugata su un quadratino di carta assorbente fornito dalla casa produttrice unitamente alle compresse; si colloca una compressa di « Occultest » al centro dell'area bagnata; si fanno cadere due goccie d'acqua sulla compressa. Se l'urina contiene sangue tutt'attorno alla compressa apparirà nel giro di due minuti un alone bleu; l'intensità, la velocità di formazione, l'estensione dell'area di colore bleu sono proporzionali alla quantità di sangue presente nell'urina.

La reazione può essere considerata fortemente positiva quando la colorazione compare entro 15"; positiva entro 15"-60"; negativa quando non si ha alcuna colorazione entro 120". (Smith).

Secondo i dati dalla casa produttrice il test è altamente sensibile: esso è in grado di dare una reazione positiva con una soluzione contenente una parte di sangue in 100.000 parti di urina normale.

E' evidente che un test dall'esecuzione così facile e rapida avrebbe rappresentato un notevole risparmio di tempo e lavoro nell'effettuazione dei controlli delle urine degli individui trattati, e abbiamo pertanto voluto confrontarlo con il nostro metodo abituale di controllo microscopico onde vedere se i dati dei due metodi collimassero perfettamente e se si potesse quindi far pieno affidamento su di esso. In tale eventualità, nell'applicazione pratica sarebbe infatti stato sufficiente limitare il controllo microscopico, che solo permette di vedere le caratteristiche delle uova dello schistosoma, ai soli casi risultati positivi alla prova delle compresse. Al risparmio di tempo rispetto al metodo abituale si sarebbe anche aggiunto il vantaggio della possibilità di esecuzione del test, per la sua estrema praticità, anche da parte di personale non particolarmente addestrato.

DATI SPERIMENTALI

Il metodo abituale fondato sulla centrifugazione e l'osservazione microscopica ed il nuovo metodo fondato sull'uso delle compresse sono stati eseguiti contemporaneamente sulle urine di 48 individui trattati con TWSb. Il trattamento era stato effettuato da un minimo di trenta ad un massimo di 400 giorni prima della prova; più della metà tuttavia (29) era stata trattata da uno a tre mesi avanti.

I risultati furono i seguenti: col metodo microscopico su 48 campioni di urine 39 presentavano scarsa ematuria microscopica associata in 27 casi con uova vive e in 12 con uova calcificate; in 9 invece l'ematuria e le uova mancavano del tutto.

Con la prova dell'« Occultest » trovammo 21 campioni di urine positivi; trattandosi di ematuria di proporzioni limitate la reazione era solo debolmente positiva; i rimanenti 27 erano invece completamente negativi

I risultati sono sintetizzati nella seguente tabella:

	n. esaminati	positivi	negativi
Metodo abituale	48	39*	9
« Occultest »	48	21	27

(*) con uova vive 27 - con uova calc. 12

Praticamente tutti i campioni che hanno dato positiva la reazione delle compresse risultavano ematurici col metodo microscopico; viceversa tra quelli che si presentavano negativi alla prova delle compresse ben 18 pari al 37,5% del totale dei campioni e al 46% del totale degli ematurici presentavano ematuria al microscopio. Tra di essi 9 avevano ematuria ed uova vive e gli altri 9 ematuria ed uova calcificate. Si trattava pur sempre di ematuria scarsissima: 15/20 elementi per campo microscopico, praticamente il sangue era in concentrazione inferiore allo 1:100.000 che è il limite di sensibilità delle compresse. Conviene inoltre sottolineare che su 12 campioni con ematuria e uova calcificate ben 9 erano negativi alla prova delle compresse. Ora la presenza di sole uova calcificate denota che la malattia è in via di estinzione e pertanto si accompagna sempre ad una ematuria di modestissima entità.

CONCLUSIONI

Dai dati su esposti è evidente che le compresse di « Occultest » se possono essere preziose per la ricerca del sangue occulto nelle feci (Smith) e per una diagnosi generica di ematuria nel corso di un censimento di bilharziosici in zone endemiche, mal si prestano per lo scopo che ci eravamo prefissi: il controllo dell'efficacia di una terapia di massa in zona endemica.

A questo punto dobbiamo rilevare che solo il metodo abituale ci può dare indicazioni su un altro fatto di fondamentale importanza e cioè se le uova di schistosoma che accompagnano l'ematuria sono vive o calcificate.

THE USE OF AN O-TOLUIDINE TEST FOR THE RAPID SCREENING OF URINE DURING MASS TREATMENT OF URINARY BILHARZIASIS.

An attempt was made to find a rapid screening method for haematuria in individuals treated with antimony dimercaptosuccinate (TWSb) in an experimental field trial against urinary bilharziasis. A search was made for haematuria in the urine of 48 patients simultaneously by the normal method (centrifuging of the urine, followed by microscopic examinations of the sediment) and by the O-toluidine tablet test (Occultest).

Since 18 urine samples which showed haematuria on microscopic examination, gave negative results in the O-toluidine test, it is concluded that this is not completely reliable for urinary examinations during the mass treatment of urinary bilzarziasis.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 2 - Giugno 1961

INTRODUCTION A LA THEORIE DE L'EVOLUTION INTRASYNCYTIALE DES FILARIATA. I. SUR LA PHAGOCYTOSE DES MICROFILAIRES *ONCHOCERCA VOLVULUS* PAR LES FIBRES MUSCULAIRES THORACIQUES, CHEZ *SIMULIUM*.

BER LEBIED (*)

Le présent travail a trait à l'explication cytophysiologique du processus de l'infestation de l'Arthropode par des microfilaires, processus longtemps méconnu, car étant toujours et invariablement confondu avec l'absorption, par l'Arthropode, d'un repas contenant soit des microfilaires, soit des oeufs des Filariata. Les détails dont il est question dans ce travail concernent l'un des deux mécanismes cellulaires, récemment découverts: la phagocytose des microfilaires par des syncytium préexistants, à savoir, les fibres musculaires thoraciques de l'Arthropode, processus cytophysiologique déterminant à la fois de l'infestation de l'Arthropode par des microfilaires et de la localisation intrasyncytiale du cycle évolutif de la larve filarienne.

C'est bien le sort de chaque nouvelle idée que d'être accueillie tout d'abord avec scepticisme, aussi, celle concernant la signification physiologique du vecteur, émise dans notre note préliminaire (Lebied, 1957) à la suite de la découverte des facteurs, externe et interne, déterminants de l'évolution intrasyncytiale des Filariata (Scrjabin) chez leurs hôtes intermédiaires, n'a pu échapper à cette règle commune (Kershaw, 1958) (**). Ce qui n'est pas surprenant, vu le sujet de nos recherches, qui n'avait jamais été abordé jusqu'à ce jour: l'investigation sur la causalité du cycle évo-

(*) *Laboratoire du Service d'Hygiène, Bukavu, République du Congo.*

(**) Relative à ses commentaires, il nous parait utile de citer textuellement la note de l'auteur précité:

« In this preliminary note on the development of *Loa loa* in *Chrypsops dimidiata* and *Chrysops silacea* the microfilaria, after ingestion, are said to leave the gut, and, after reaching the haemocoele, are then surrounded by fatty cells wich fuse producing polynucleate cells. In this process the fatty cells are active and the microfilariae are passive. This process is regarded as being similar to that occuring in the development of *Onchocerca volvulus* in the thoracic muscles of *Simulium* for this tissue can be regarded as a pre-existing syncytium.

It is suggested that the specific localisation in syncytium is of significance in the development of the filariae in their intermediate hosts.

(The appearances described in this preliminary note are capable of an alternative explanation).

lutif d'un ordre zoologique des parasites hétéroxènes. Rappelons que les facteurs, externe et interne, déterminants de l'évolution intrasyncytiale des Filariata sont respectivement les suivants:

1) la manifestation des processus cytophysiologiques aboutissant à la phagocytose des microfilaires et à leur localisation (suite à la nature bien déterminée des mécanismes cellulaires en jeu) dans des cellules toujours polynucléées, autrement dit: syncytium;

2) les exigences nutritives, bien spécifiques, de la larve filarienne en développement, ne se nourrissant, que des matières de réserve figurées, glycogène et corps albuminoïdes, ne se trouvant guère, dans l'état précité, que dans des cellules, matières élaborées et emmagasinées justement en grandes quantités par les syncytium parasités (Lebied, 1957; Lebied, 1959). Rappelons également la découverte conséquente (Lebied, 1957) des relations filario-énergidiques déterminants de l'achèvement ou de la suppression de l'évolution intrasyncytiale de l'espèce filarienne donnée, agissant, dans tout syncytium parasité, en fonction du nombre des énergides constituant la cellule polynucléée et du nombre des microfilaires que cette dernière a phagocytées (*). Processus physiologique se jouant donc, journellement, sur une grande échelle et par gradation, chez divers arthropodes s'étant infestés par des microfilaires d'une espèce filarienne donnée et aboutissant, ou à la suppression totale de l'évolution intrasyncytiale de la dite espèce, au stade « saucisse », chez les uns, ou à l'achèvement synchronique total ou parfois partiel de la dite évolution des larves filariennes chez d'autres. Ces derniers arthropodes deviennent par ce fait hôtes intermédiaires de l'helminthe, vecteurs donc de la Filariose respective.

Or, vu la nouveauté de ces faits, il était normal de s'attendre à une incrédulité, surtout si l'on prend en considération le fait que l'essentiel de notre découverte est précisément l'explication physiologique des mécanismes cellulaires déterminants de l'infestation de l'arthropode par des microfilaires, découverte combien imprévue en Parasitologie, si l'on en juge par la critique précitée. Car il ne faut pas oublier, que par suite d'une habitude irréfléchie, les chercheurs croient fermement dans la réalité de la vieille et courante conception de la pénétration active et délibérée des microfilaires dans la musculature thoracique (Noè, 1903; Connal and Connal, 1922; Blacklock, 1926a, 1926b; Sharp, 1928; Wanson, Henrard et Peel 1945; Henrard, Peel et Wanson, 1946; Chardome et Peel, 1949; Wanson, 1950), fibres musculaires thoraciques (Iyengar, 1936; Lebied, 1950), corps

(*) Etant donné que la potentialité assimilatrice des syncytium parasités dépend du nombre de ses noyaux, en conséquence il est compréhensible que plus grand sera le nombre de ces derniers, plus grande sera la quantité de matières de réserve élaborées et emmagasinées par ces cellules polynucléées et ainsi un plus grand nombre de larves filariennes achèveront leur évolution intrasyncytiale Le développement de ce sujet sera repris dans un travail ultérieur.

adipeux (Kleine, 1915; Connal and Connal, 1922; Stevenson, 1922), adipocytes (Rancom, cité par Roubaud et Descazeaux, 1921; Lavoipierre, 1958), oënocytes (Lavoipierre, 1958), tubes de Malpighi et les cellules les composant (Grassi e Noè, 1900; Fülleborn, 1908; Roubaud et Descazeaux, 1921). Conception qui est adoptée par les Précis de Parasitologie, même les plus recents (Neveu-Lemaire, 1936; Mackie, Hunter and Worth, 1945; Craig and Faust, 1945; Brumpt, 1949; Geigy und Herbig 1955; Manson-Bahr 1957).

Comme prévu, c'est effectivement à cette croyance indiquée, dont l'inanité a, si paradoxal que cela puisse paraître, échappé si longtemps aux chercheurs, que s'est heurtée notre explication physiologique du processus de l'infestation de l'arthropode par des microfilaires. En effet, l'avis sceptique à l'égard de notre découverte, où il est même question « des apparences décrites qui peuvent être interprétées d'une autre manière » quant à la réalité incontestable des phénomènes que nous avons vus se produire de nos propres yeux, ne reflète, en réalité, que la conséquence logique de la regrettable habitude, fortement ancrée, de se référer à la dite croyance de « la pénétration active et délibérée » des microfilaires dans les cellules et organes énumérés, sans jamais se demander si ce phénomène existe en réalité (*). A ce propos, il serait très intéressant, pour éclaircir le problème, de préciser exactement l'origine de cette croyance, si prédominante, bien que n'ayant jamais été prouvée.

Aujourd'hui, nous pouvons donner cette précision. En effet, il suffit simplement, de passer une revue critique des travaux faits, même au cours des dernières décades, pour se rendre compte d'un paradoxe bien frappant: la dite croyance a été élaborée et présentée comme étant un fait tangible, à l'époque où, l'application du procédé de dissection, ou plutôt d'écrasement, des vecteurs parasités, dans la solution physiologique, a été généralisée. En conclusion, nul n'avait pu voir se produire, dans ces conditions, « le phénomène » (en admettant même qu'il puisse exister) de la « pénétration active et délibérée » des microfilaires dans les fibres musculaires thoraciques, adipocytes, oënocytes et les cellules constituant les tubes de Malpighi de l'insecte. C'est ainsi également et pour la même raison, que la réalité de l'évolution intrasyncytiale des Filariata, et à plusieurs reprises les différents chercheurs (Grassi e Noè, 1900; Fülleborn, 1908; Roubaud et Descazeaux 1921; Iyengar, 1936; Lavoipierre, 1958) ont été à quelques

(*) La nature de la croyance (en fin de compte non physiologique, car finaliste et antropomorphiste), de la « pénétration active et délibérée » des microfilaires dans les cellules énumérées, ne peut être mieux appréciée que par la citation d'une « formule » choisie parmi beacoup d'autres semblables: « Les microfilaires en état d'évolution passent rapidement dans la cavité générale et de là vont se loger dans les muscles thoraciques » (Chardome et Peel, 1951). A noter, que nous-mêmes avons été un certain temps (Lebied, 1950) influencé par cette croyance, si profondément ancrée, jusqu'au jour où nous nous sommes rendus à l'évidence de son inanité.

pas seulement de la découvrir, échappa constamment et complètement aux parasitologistes. Car les syncytium où siège le cycle évolutif des Filariata étaient toujours écrasés ou inaperçus.

La meilleure preuve de cet état de choses en est fournie par les affirmations confuses et divergentes des auteurs, selon lesquels, les Filaires se développeraient tantôt « librement » dans la cavité générale de l'arthropode (Witenberg and Gerichter, 1944; Wanson et Rodhain, 1953; Anderson, 1956; Newton and Wright, 1956), ou dans la « lumière » des tubes de Malpighi (Grassi e Noè, 1900; Noè, 1901; Fülleborn, 1908; Bernard et Bauche, 1913; Pistey, 1956), tantôt «enkystées» dans des «kystes», «pseudo-kystes», « thylacies » ou « bourrelets » au niveau des tubes de Malpighi et du « corps gras » (Roubaud et Descazeaux, 1921; Neveu-Lemaire, 1936; références), ou tantôt encore « insinuées » dans la musculature de l'insecte (Blacklock, 1926; Sharp, 1928; Wanson, Henrard et Peel, 1945; Henrard, Peel et Wanson, 1946; Chardome et Peel, 1949; Lewis, 1953), ou dans son « corps gras » (Kleine, 1915; Connal and Connal, 1922; Mackerras, 1953) ou encore dans la « Parenchyma » (Williams, 1948; Hughes, 1950; Bertram, 1957).

Il est remarquable de noter que le procédé de dissection des vecteurs parasités étant défectueux, les chercheurs (Connal and Connal, 1922, Stevenson, 1922; Iyengar, 1936; Witenberg and Gerichter, 1944; Lavoipierre, 1958) n'ayant aucun point de repère, n'ont pu interpréter convenablement leurs préparations histologiques d'arthropodes parasités. Il résulte de ceci, que la pierre angulaire de l'épidémiologie de toute Filariose étant le problème de la signification physiologique de l'infestation d'arthropodes par des microfilaires, celui-ci échappa constamment et complètement aux chercheurs jusqu'à nos récentes recherches sur les mécanismes cellulaires aboutissant à la phagocytose des microfilaires (se trouvant dans la cavité générale de l'arthropode après qu'elles ont quitté son tube digestif). Nous avons dit (Lebied, 1957), que cette phagocytose peut présenter deux aspects: soit la naissance des syncytium filariens (*), par la fusion localisée de cellules bien déterminées, adipocytes et les cellules composant les tubes de Malpighi, au contact des microfilaires (ces dernières se trouvant alors englobées dans le protoplasme de la cellule polynucléée, produit de la fusion localisée des cellules indiquées) (**); soit la présence des syncytium préexistants (fibres musculaires thoraciques) phagocytant les microfilaires par une ingestion

(*) Il est intéressant de noter que les syncytium filariens on été pris longtemps pour des « kystes » (Rancom, cité par Roubaud et Descazeaux, 1921) « pseudo-kystes » et « thylacies » (Roubaud et Descazeaux, 1921) ou pour « une dégénérescence syncytiale des tissus parasités » (Lavoipierre, 1958).

(**) Il ne s'agit donc nullement d'un « mouvement encerclant » des « passives » microfilaires par les cellules indiquées, comme Kershaw présente erronément nos observations, mais d'une réelle manifestation de l'activité bien déterminée des mécanismes cellulaires au contact des microfilaires, processus cytophysiologique dont le véritable agent promoteur sera mis en évidence au cours de cette étude.

simple. Précisons qu'une revue critique des travaux faits jusqu'à 1957 (Lavoipierre, 1958), nous a montré l'absence totale de la recherche d'une explication physiologique du processus de l'infestation de l'arthropode par des microfilaires, ce dernier processus étant toujours et invariablement confondu avec l'absorption même du repas contenant les germes en cause. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle on peut constater dans les expériences d'infestation des divers arthropodes par des microfilaires, des allégations (Wanson et Rodhain, 1953) avançant l'idée du « développement abortif » de la larve filarienne, précisément dans des cas où, en réalité, il n'y avait nulle « infestation », mais simplement absorption par l'arthropode d'un repas contenant des microfilaires et le rejet de celles-ci par l'anus.

Immanquablement, on remarque que le procédé de la dissection des vecteurs parasités, dans la solution physiologique, n'était pas idéal pour la recherche sur la causalité du cycle évolutif des Filariata chez leur hôtes intermédiaires et les rapports anatomiques et physiologiques qui sont en cause. Dès lors, est compréhensible la raison pour laquelle toute recherche sur le cycle évolutif des Filaires se cantonna aussi longtemps et invariablement autour de la description des stades évolutifs, pourtant sensiblement les mêmes à travers les espèces filariennes composant l'ordre zoologique des Filariata. Il est certain que la connaissance de la physiologie du cycle évolutif de la larve filarienne n'a nullement progressé en proportion du nombre croissant des descriptions des stades évolutifs des différentes espèces.

Il est donc évident que cette routine dans la recherche n'a pu aider en rien à résoudre les grands problèmes formant l'ossature de l'épidémiologie des Filarioses, et dont la solution est intimement liée à la connaissance exacte des rapports anatomiques et physiologiques existant entre l'organisme d'hôte intermédiaire et ses parasites.

C'est ainsi que les recherches concernant l'épidémiologie des Filarioses ont été très longtemps orientées uniquement vers des études strictement écologiques, morphologiques et taxonomiques des vecteurs, études qui se sont effectivement révélées inefficaces pour la résolution d'un grand nombre de problèmes épidémiologiques (O.M.S., Comité d'Experts de l'Onchocercose, 1954; Symposium on Loiasis, 1955), dont la solution relève, en réalité, de l'application d'une toute autre méthode de recherche.

C'est ce qui a été fait, par la découverte des mécanismes cellulaires déterminants de l'infestation des arthropodes par des microfilaires et consécutivement, aboutissant à la découverte des relations filario-énergidiques,

déterminants du triage d'hôtes intermédiaires (Lebied, 1957) de telle ou telle autre espèce filarienne, processus s'effectuant journellement dans la nature, sur une grande échelle et par gradations, parmi divers arthropodes s'étant infestés par les microfilaires d'une espèce donnée. La meilleure preuve de l'inconvénient provoqué par l'absence, à l'époque, des connaissances citées, en est précisément fournie par des allégations confuses (Lewis, 1953; Lewis, 1957) sur l'importance que présente, selon l'auteur précité, l'étude de certaines particularités de la structure de la chitine de l'abdomen des Simulies, de leurs glandes salivaires, de leur sac oesophagien, de la présence ou de l'absence de la « membrane péritrophique » et qui est, en réalité, nulle, car n'apportant rien à la connaissance des mécanismes déterminants du cycle évolutif des Filariata, donc, sans valeur dans l'épidémiologie de l'Onchocercose. De même, contrairement à une opinion récemment émise (Lavoipierre, 1958) la connaissance de la façon dont les larves infectieuses de *Loa loa* parvienent à la trompe de *Chrysops,* bien qu'intéressante en elle-même, n'est pourtant pas primordiale (*), car elle n'apporte rien non plus à la connaissance de la physiologie du cycle évolutif des larves filariennes, intéressant l'épidémiologie des Filarioses. D'ailleurs, comme l'opinion précédente, elle ne donne nullement lieu à une vue d'ensemble, permettant l'application de la méthode comparative de recherche (l'instrument d'investigation le plus efficace en Biologie), et dont la découverte des facteurs déterminants de l'évolution intrasyncytiale des Filariata en est le résultat. Visiblement, les chercheurs ont perdu de vue les rapports, anatomiques et physiologiques, qui conditionnent la signification physiologique des arthropodes dans la vection des Filarioses et dont la connaissance est pourtant indispensable pour comprendre enfin, les problèmes épidémiologiques fondamentaux de ces fléaux, dans leur ensemble (Lebied, 1960). Problèmes, dont personne n'avait même pu prévoir l'existence, étant donné la présence des obstacles insurmontables constitués par un procédé de dissection défectueux et une routine de recherche non physiologique. Mais rappelons que le remaniement des choses, c'est à dire, la mise en évidence de l'importance d'aborder l'étude du cycle évolutif des Filaires sous l'angle physiologique, date déjà, en réalité, de la mise au point de la nouvelle méthode (Lebied, 1950; Lebied, 1960) de dissection des Simulies, parasitées par *Onchocerca volvulus,*

(*) En effet, chez un grand nombre des espèces filariennes, les larves infectieuses ne sortent pas par la trompe de l'insecte, mais sont ingérées (avec les hôtes intermédiaires) par l'hôte définitif.

préalablement fixées et colorées in toto (*). Elle nous a permis, en effet, et pour la première fois, de montrer l'intérêt que peut présenter pour l'épidémiologie des Filarioses, l'étude des rapports anatomiques et physiologiques entre les larves filariennes, en évolution intrasyncytiale, et les cellules polynuclées (en l'occurence, les fibres musculaires thoraciques de l'insecte) où siège le cycle évolutif de la Filaire (**). En effet, l'explication physiologique (Lebied, 1950) de la sporadicité caractéristique des foyers endémiques d'Onchocercose (et des autres Filarioses encore, également transmises par des vecteurs ailés), dont la véracité a été confirmée dernièrement par des expériences sur le terrain (Dalmat, 1955) est le résultat de l'application conséquante de la méthode de dissection des vecteurs préalablement fixés et colorés in toto. La découverte des processus cytophysiologiques déterminants de l'infestation de l'arthropode par des microfilaires est le résultat de l'application de cette même méthode de dissection, qui nous a permis de démontrer (Lebied, 1950) la réalité de l'évolution intrasyncytiale des Filaires s'effectuant dans les fibres musculaires thoraciques, fibres qui assument le rôle du mécanisme de vol de l'insecte.

Pour étayer notre thèse (ce que nous n'avons pu faire dans une courte note préliminaire) concernant la réalité des processus cytophysiologiques, déterminants de la localisation intrasyncytiale du cycle évolutif des Filariata par la phagocytose des microfilaires, et où, des mécanismes cellulaires bien déterminés jouent leur rôle, nous trouvons que rien n'est plus logique, pour trancher le problème, que de relater les détails de nos premières expériences. Celles-ci touchent notre étude sur la phagocytose des microfilaires *O. volvulus* par les fibres musculaires thoraciques de *Simulium damnosum,* fixés dans l'alcool depuis 1947. Etude déjà faite par nous

(*) Nous devons rappeler que cette méthode de dissection des vecteurs des Filarioses dans l'huile de cèdre suivie par la conservation des fibres musculaires parasitées dans le baume de Canada, est, à notre avis, de beaucoup meilleure à une modification apportée (Nelson, 1958). Les avantages sont, d'une part, la permanence des préparations qui peuvent être conservées sans aucun lut, car la propriété du baume de Canada est de donner aux préparations une dureté considérable, et d'autre part, un bon éclaircissement de la fibre musculaire parasitée, par suite de l'indice de réfraction élevé du milieu. Les préparations montées dans la glycérine (Nelson, 1958) peuvent être utilisées, mais elles sont d'une part, peu maniables, même lutées, et d'autre part, peu éclaircies à cause de l'indice de réfraction peu élevé de ce milieu. En outre, selon les dernières appréciations de l'auteur lui-même (Nelson, 1959) ses préparations colorées et conservées dans la glycérine se décolorent, chose qui ne se produit pas avec nos préparations incluses dans le baume de Canada.

(**) Notre interprétation de l'évolution intracellulaire d'*Onchocerca volvulus* s'effectuant dans les fibres musculaire thoraciques chez les Simulies a été dernièrement confirmée (Lavoipierre, 1958), il en a été de même pour le cycle évolutif de *Wuchereria bancrofti* et *W. malayi* s'effectuant dans les mèmes fibres musculaires des moustiques, fait déjà prévu par nous (Lebied, 1950). Toutefois, nous devons remarquer que l'auteur confirmant notre interprétation concernant la nature intracellulaire de l'évolution des dites Filaires, n'a pas concilié ce fait avec la structure syncytiale des fibres musculaires comme nous l'avons souligné (Lebied, 1950).

à Léopoldville en 1951, mais restée inédite jusqu'à ce jour. Nous devons dire que ces détails vérifiés à nouveau durant l'année 1959, et dont nous faisons part dans cette note, étaient primitivement destinés à un travail complet, développant les idées énoncées dans la note préliminaire (Lebied, 1957) mais suite à la critique, non fondée, citée plus haut et exprimant l'incrédulité, nous sommes tenus de les relater dès à présent, pour couper court à toute objection éventuelle, avant la parution de notre ouvrage complet. Car il est certain que l'allégation (Wanson, 1950), selon laquelle, la fibre musculaire thoracique de l'insecte « serait enveloppée par le sarcolème et par le périmysium », bien qu'inadmissible en Entomologie. n'a pu faciliter la compréhension de l'idée de la phagocytose des microfilaires par cette cellule. Or, les fibres musculaires thoraciques de l'insecte sont, contrairement à cette croyance indiquée, des cellules nues, n'ayant nullement ni du sarcolème, ni du périmysium.

Nous croyons utile, également, de souligner que les considérations nous ayant amenés à la découverte de la phagocytose des microfilaires par les fibres musculaires thoraciques de l'insecte, sont liées à trois faits (Lebied, 1950): 1° la larve filarienne se développe, depuis le début de son cycle évolutif, dans une vacuole créée au sein du sarcoplasme de la fibre musculaire parasitée. Donc, une situation tout à fait comparable à celle qu'occupent les matières de réserve dans une cellule, ou la proie ingérée par une amibe; 2° la vacuole, dont il est question, ne renferme jamais qu'une seule larve filarienne, tout comme les proies ingérées par l'amibe se trouvent chacune respectivement dans une vacuole; 3° augmentation du volume des noyaux dans la fibre musculaire parasitée.

Ajoutons toutefois que, déjà à priori, la considération en elle seule de l'imperméabilité du protoplasme vivant pour tout autre protoplasme vivant, ne nous a pas permis d'admettre la réalité de la « pénétration active » des microfilaires dans les fibres musculaires thoraciques de l'insecte, tout comme dans ses autres cellules, mentionnées plus haut.

Nous accompagnons cette étude d'une riche iconographie montrant les phases successives de la phagocytose des microfilaires d'*O. volvulus* par les fibres musculaires thoraciques de *Simulium damnosum* (*).

*
* *

Les données, dont nous faisons part dans ce travail, concernent les résultats de la dissection d'un nombre considérable de *S. damnosum*, qui s'étant gorgés sur des porteurs d'*O. volvulus* furent ensuite fixés dans l'al-

(*) Les données concernant le mécanisme cellulaire, présidant à la naissance des syncytium filariens, seront réservées pour l'ouvrage complet, cité plus haut, d'autant plus que la révélation de ces données nécessite la description d'une modification que nous avons apportée à notre méthode de dissection (Lebied, 1950; Lebied, 1960).

cool éthylique à 80°, à des intervalles réguliers de 5, 10, 15 minutes et ainsi de suite, durant 17 heures après leur repas sanguin. Nous avons ainsi disposé d'un grand nombre de Simulies fixées, pouvant montrer dans toute son intégrité, par des images cinétiques et chronologiques, le processus cytophysiologique amenant à la localisation intrasyncytiale du cycle évolutif d'*O. volvulus* dans les fibres musculaires de l'insecte, et aboutissant à l'infestation de celui-ci par les germes en cause. Chaque intervalle de 5 minutes dans la fixation de nos Simulies, nous a fourni la découverte d'un phénomène nouveau. Ainsi, notre attention s'est d'abord tournée vers la révélation de l'endroit exact du tube digestif du *Simulium*, par où les microfilaires absorbées, gagnent la cavité générale de l'insecte: la partie antérieure de l'estomac, autrement appelée cardia, se trouvant dans le thorax. Nous avons même pu capter l'image cinétique du phénomène (fig. 1) et préciser que les microfilaires ne perforent pas les parois de cet organe, mais qu'il s'agit là d'un processus histolytique (*). Il résulte de ceci, que les communications antérieures disant que les microfilaires traversent les parois de l'estomac (Hoffmann, 1930; Hoffmann 1931) du *Simulium*, ou les parois de son diverticule oësophagien (Vargas 1942) ou encore ses tubes de Malpighi (Lewis, 1953), ne sont autre chose que des suppositions non confirmées par l'expérience.

Nous n'avons trouvé des microfilaires dans le cardia des Simulies qu'à partir de la 15eme minute après le repas infectant. Nous avons vu des grandes quantités de microfilaire (fig. 1) venant de l'estomac et pénétrant dans le cardia, même 11 heures après que les Simulies se sont gorgées sur le porteur d'*O. volvulus*. A noter, bien que la quantité de microfilaires croit graduellement et par vagues successives, dans cet endroit du tube digestif, déjà à partir de la 15eme minute qui suit le repas infectant, cet accroissement du nombre des microfilaires, venant des profondeurs de l'estomac, n'est pas suivi immédiatement du passage des germes en cause dans la cavité générale thoracique de l'insecte. En effet, ce n'est qu'à partir de la 45eme minute que nous avons trouvé les microfilaires dans l'hémocoele du thorax, et dont le nombre y croit, au fur et à mesure de l'écoulement du temps. Elles y sont, à en juger par les préparations, très mobiles, car nous les avons trouvé (quelques minutes seulement après leur sortie du cardia) dans les parties les plus éloignées, voir les haltères (fig. 2) et même dans les cavités générales de la tête et de l'abdomen de

(*) Comme le phénomène du passage des microfilaires du cardia dans la cavité générale de l'insecte ne constitue pas le processus de l'infestation, proprement dite, de celui-ci, et pour ne pas allonger le texte de ce travail, nous nous proposons de donner les détails sur ce phénomène dans une étude ultérieure.

l'insecte (*). Elles se meuvent tout près des fibres musculaires thoraciques, s'insinuant dans les espaces séparant les fibres musculaires longitudinales et dorso-ventrales. C'est alors, seulement que nous nous sommes trouvés devant le phénomène le plus palpitant: l'accolage des microfilaires aux fibres musculaires thoraciques (fig. 3 et 5), suivi par la phagocytose des helminthes par ces syncytium préexistants (fig. 6 à 14) donc un processus cytophysiologique comme jamais chercheur n'en avait vu.

Notons que l'accolage des microfilaires aux fibres musculaires thoraciques, suivi de leur phagocytose par ces dernières, se fait en un point quelconque de la fibre musculaire, et aussi bien par la partie céphalique (fig. 3 et 6), caudale (fig. 7 et 8) ou par n'importe quelle circonvolution du corps de l'helminthe (fig. 6 à 9) qui vient en contact avec la fibre musculaire.

Il importe de noter que la phagocytose des microfilaires par les fibres musculaires est accompagnée, depuis le début de ce processus cytophysiologique par l'augmentation du volume des noyaux de ces fibres, fait déjà signalé par nous au cours de l'étude de l'évolution intrasyncytiale d'*O. volvulus* chez *Simulium damnosum* (Lebied, 1950).

Dans les images cinétiques et chronologiques de la phagocytose des microfilaires par les fibres musculaires thoraciques, telles qu'elles se présentent réellement dans nos préparations, nous avons décelé encore un fait important: malgré les efforts (fig. 3) faits par la microfilaire pour libérer les parties de son corps qui viennent d'être accolées à une fibre musculaire, ces parties du corps sont englouties par le sarcoplasme de cette dernière. En effet, on voit se dessiner (fig. 6 et 7) et se former (fig. 8, 9, 10, 11, 12 et 14) une vacuole entourant aussitôt les circonvolutions accolées de la microfilaire. On observe alors, un réel enlisement des restes du corps libre de la microfilaire dans la vacuole créée au sein du sarcoplasme de la fibre musculaire et cette vacuole se referme enfin sur l'helminthe phagocytée.

Lorsque plusieurs circonvolutions d'une même microfilaire s'accolent séparément à une fibre musculaire, chacune de ces circonvolutions est phagocytée là où elle entre en contact avec le sarcoplasme (fig. 6 à 8). Au fur et à mesure de l'enlisement des dites parties de la microfilaire, les vacuoles particulières fusionnent en une seule vacuole renfermant la microfilaire (fig. 10, 11 et 14). Cette dernière se trouve alors en suspension

(*) Toutefois, notons que notre méthode de dissection ne permet pas l'étude systématique du comportement des microfilaires se trouvant dans l'amas sanguin contenu dans l'estomac, ni les mouvements de ces germes entrant dans la cavité générale de l'abdomen de l'insecte. Nous trouvons que la recherche concernant le comportement des microfilaires dans ces parties du corps des Simulies doit être faite par l'examen des coupes histologiques.

Fig. 1 - Fragment du cardia montrant un grand nombre de microfilaires *O. volvulus* venant de l'estomac de l'insecte.

Fig. 2 - Un haltère de *S. damnosum* montrant deux microfilaires *O. volvulus*.

dans la vacuole créée au sein du sarcoplasme de la fibre musculaire (*). Lentement, la microfilaire phagocytée et la vacuole dans laquelle elle se trouve, s'enfoncent (fig. 11 et 14) dans les profondeurs du sarcoplasme de la fibre musculaire. Nous avons vu également des microfilaires phagocytées, donc se trouvant chacune dans une vacuole, cessant de s'enfoncer dans le sarcoplasme, pour y rester en suspension à quelques microns seulement de la surface cytoplasmique qui les a englouties. Ce dernier phénomène est très fréquent après un laps de temps assez long séparant le moment de la prise du repas infectant à la fixation de la Simulie. Ce fait serait dû à la densité croissante du sarcoplasme des fibres musculaires par suite de l'élaboration des premières quantités de matières de réserve, emmagasinées par les dites fibres et dues à l'assimilation du repas sanguin ingéré par la Simulie, assimilation qui reste d'ailleurs en progression durant les trois premiers jours du cycle gonotrophique.

Durant les premières 2 à 3 heures, la microfilaire phagocytée se débat vigoureusement dans la vacuole qui l'emprisonne, elle se courbe, s'enroule sur elle-même et se tortille (fig. 10 e 11), puis semble se calmer pour prendre enfin, avec la vacuole qui l'enveloppe, une position parallèle aux fibrilles (fig. 14), orientées dans le sens de l'axe longitudinal de la fibre musculaire, et, c'est dans cette position que se passe son évolution intrasyncytiale (Lebied, 1950). Soulignons que par vacuole, il n'y a qu'une seule microfilaire.

Les dernières manifestations de l'accolage des microfilaires aux fibres musculaires, suivi de leur phagocytose par ces dernières, sont constatées, dans nos observations, aux environs de la 17eme heure après l'absorption d'un repas infectant par les Simulies. Ce fait coïncide avec l'apparition des quantités considérables de glycogène et de corps albuminoïdes dans les fibres musculaires thoraciques. Nous en déduisons que le facteur provoquant l'arrêt dans l'accolage et la phagocytose des microfilaires aurait son origine immédiate dans la densité croissante du sarcoplasme des fibres musculaires, cette densité diminuant la viscosité de ce dernier. Nous trouvons ici l'occasion de montrer clairement le fait que le contact des microfilaires avec les fibres musculaires provoque un changement profond dans l'état physico-chimique du sarcoplasme de ces dernières, précisément, l'augmentation de sa viscosité. Par exemple, les fines fibres musculaires, composant la musculature des flexors (fig 13), normalement bien séparées une de l'autre, fusionnent dans les points où les cir-

(*) La microfilaire phagocytée reste dans cette vacuole pendant toute la durée du développement qu'elle a à subir dans la fibre musculaire (Lebied, 1950). Dans le travail complet annoncé, nous expliquerons le rôle intermédiaire joué par cette vacuole dans le processus de l'alimentation de la larve filarienne en évolution intrasyncytiale.

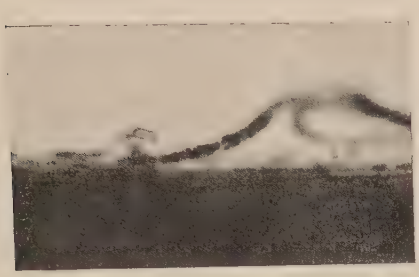

Fig. 3 - Microfilaire *O. volvulus* accolée par la partie céphalique à une fibre musculaire. Remarquer les efforts faits par la microfilaire pour se libérer.

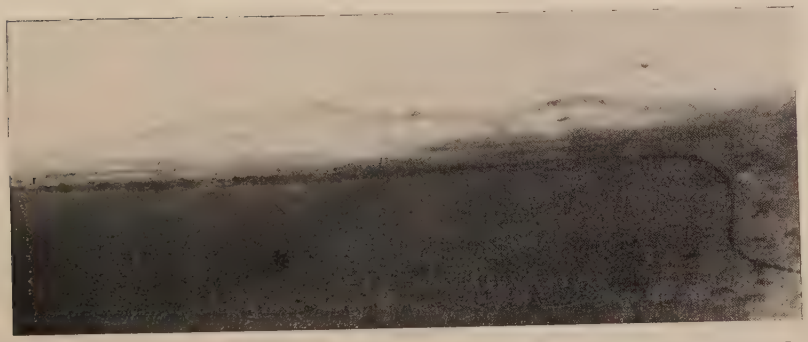

Fig. 4 - Aspect pathologique d'un fragment d'une fibre musculaire de *S. damnosum* suite à un décollage massif et spontané de plusieurs microfilaires *O. volvulus*, échappant à la phagocytose. Remarquer l'étirement du sarcoplasme provoqué par le décollage des microfilaires, et également, une microfilaire dont la partie céphalique est déjà phagocytée tandis que la partie caudale est encore libre.

Fig. 5 - Aspect de l'accolage d'une microfilaire *O. volvulus* aux fines fibres musculaires composant un muscle allaire de *S. damnosum*. Remarquer que les circonvolutions de la microfilaire touchent toutes ces fines fibres musculaires.

convolutions d'une ou de plusieurs microfilaires les touchent. Ces points de la fusion du sarcoplasme des fibres musculaires forment alors des syncytium secondaires (fig. 10), la fibre musculaire étant, comme nous le savons déja, un syncytium.

Remarquons que le processus de la phagocytose des microfilaires est très rapide, il s'effectue en quelques minutes. Ainsi, 65 minutes seulement après l'absorption du repas contenant des microfilaires et 20 minutes après la première constatation du début de la phagocytose des microfilaires par les fibres musculaires thoraciques, nous trouvons déjà, dans un cas, 15 microfilaires phagocytées et 6 autres dont la phagocytose est en cours. Cependant, une remarque s'impose. On ne doit nullement déduire de ce fait, montrant la vitesse avec laquelle s'effectue la phagocytose des microfilaires par les fibres musculaires, qu'il s'agit là de quelque attraction spéciale exercée par ces dernières sur ces germes. Nous avons exactement constaté le contraire. Ainsi, plusieurs heures après l'absorption de leur repas infectant, on trouve, chez un grand nombre de Simulies, que l'accolage des microfilaires aux fibres musculaires en est seulement à son début. Citons l'exemple d'une Simulie ayant été fixée 9 h. après qu'elle s'est gorgée sur le porteur d'*O. volvulus* et montrant pourtant, à la dissection, non seulement 28 microfilaires en train d'être phagocytées, mais encore 21 autres microfilaires tout au début de l'accolage aux fibres musculaires. En outre, le fait que les microfilaires sortant du cardia se répandent rapidement dans toute la cavité générale de l'insecte, même dans les parties les plus éloignées des fibres musculaires thoracique, est très significatif, car il prouve qu'il n'y a aucune attraction exercée par la musculature thoracique sur les microfilaires. De même, nous n'avons décelé aucun signe d'attraction microfilarienne par telle ou telle autre fibre musculaire. Les microfilaires ne montrent, elles non plus, aucun choix actif pour les fibres musculaires longitudinales, dorso-ventrales, pleurales, allaires, flexors, etc... Toutes ces fibres musculaires thoraciques énumérées, du *S. damnosum*, phagocytent les microfilaires d'*O. volvulus* de la manière décrite (*).

Notons, toutefois, qu'une différence existe dans la nature quantitative du phénomène. Ainsi, les fibres musculaires longitudinales et dorso-ventrales (les plus volumineuses des fibres musculaires) composant le système de la musculature indirecte du vol de l'insecte, phagocytent beaucoup plus de microfilaires que les petites fibres musculaires du système de la musculature directe du vol, exception faite, toutefois, pour

(*) Ce fait est à retenir, pour l'étude ultérieure, où nous parlerons des origines et du mécanisme des relations filario-énergidiques déterminants de l'achèvement ou de la suppression de l'évolution intrasyncytiale des Filariata. Fait, intéressant l'épidémiologie des Filarioses, car il est à l'origine du triage d'hôtes intermédiaires, s'effectuant journellement dans la nature, ou autrement dit, du processus physiologique de l'avènement des vecteurs (Lebied, 1957).

Fig. 6 - Une fibre musculaire phagocytant une microfilaire *O. volvulus*. Remarquer que la tête et une circonvolution de la microfilaire sont seules accolées à la fibre alors que les autres parties sont encore libres.

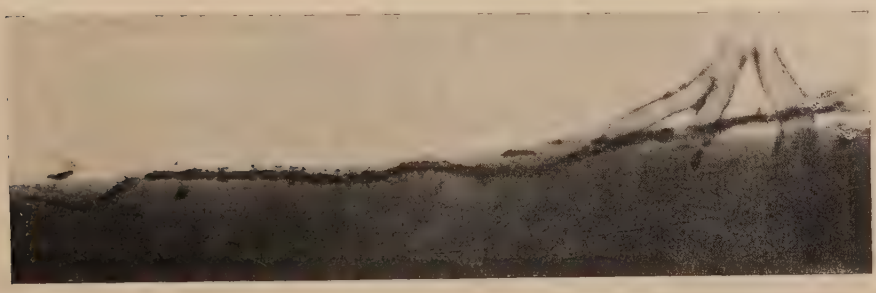

Fig. 7 - Une fibre musculaire phagocytant une microfilaire *O. volvulus*. La partie céphalique de la microfilaire est encore libre.

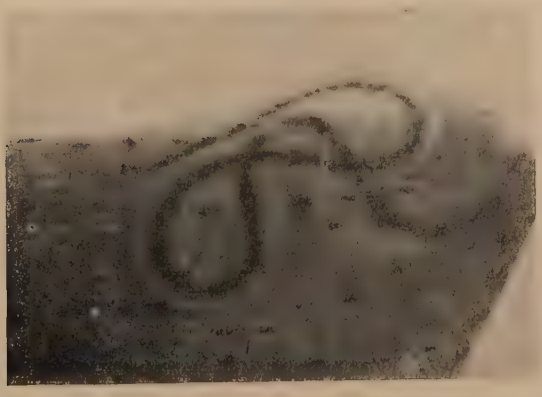

Fig. 8 - Une fibre musculaire phagocytant une microfilaire *O. volvulus*. Remarquer les différentes circonvolutions de la microfilaire autour desquelles s'ébauchent des vacuoles alors qu'une partie du corps de l'helminthe est encore libre.

les fibres musculaires en éventail, comparativement grandes, constituant la musculature des flexors de la deuxième paire de pattes (fig. 13). En effet, ces dernières fibres musculaires phagocytent parfois également un grand nombre de microfilaires. Nous référant à la myologie spécifique des fibres musculaires thoraciques de l'insecte, nous avons trouvé, que cette différence n'indique que trop clairement la cause du phénomène qui cadre harmonieusement avec le processus cytophysiologique décrit. Deux explications sont à envisager et nos préparations les prouvent: le premier point important est la situation des fibres musculaires, longitudinales et dorso-ventrales, par rapport à la partie antérieure de l'estomac, le second point important est le volume des fibres musculaires. Comme le cardia (par où, précisément, les microfilaires gagnent la cavité générale de l'insecte) occupe, chez la Simulie, une situation à peu près centrale entre les systèmes des fibres musculaires longitudinales et dorso-ventrales, il est évident, que dans ces conditions les fibres musculaires allaires, pleurales, flexors, etc..., ne phagocyteront que les microfilaires échappant (par les espaces séparant les fibres musculaires longitudinales et dorso-ventrales) à ce cordon de fibres musculaires qui les phagocytent en grand nombre. D'autre part, il existe une fuite des microfilaires accolées. Une fibre musculaire trop mince augmente la chance, de telle ou telle autre microfilaire accolée, de se libérer en étirant fortement le sarcoplasme qui la retient. En effet, nous avons vu, en étudiant le processus de la phagocytose des microfilaires par les différentes fibres musculaires, le phénomène que nous venons d'indiquer. Observations, d'autant plus importante, car elle étayait absolument notre thèse, disant qu'il n'existe pas de « pénétration active et délibérée » des microfilaires dans les fibres musculaires thoraciques de l'insecte.

Voici les détails de nos observations vérifiant et confirmant les explications qui précèdent.

La microfilaire, qui s'accole à une fibre musculaire, se débat vigoureusement (fig. 3 et 8), on observe même une sorte d'étirement du sarcoplasme de la fibre musculaire, sous forme d'ondulations légères et d'aspect hyalin (fig. 12), épousant nettement les circonvolutions de la microfilaire et la retenant dans ses efforts de fuite (*). On voit même, çà et là, sur les fibres musculaires, ces ondulations cytoplasmiques décrites, montrant effectivement les endroits où des microfilaires ont échappés à la phagocytose (fig. 4). Ce prénomène est d'autant plus fréquent lorque les microfilaires s'accolent par leurs circonvolutions aux fibres musculaires très minces, telles que, les fibres musculaires pleurales et les fibres mu-

(*) Ces derniers phénomènes sont nettement visibles surtout en bordure des fibres musculaires.

Fig. 9 - Une fibre musculaire phagocytant une microfilaire *O. volvulus*. La presque totalité de la microfilaire est déjà à l'intérieur du sarcoplasme.

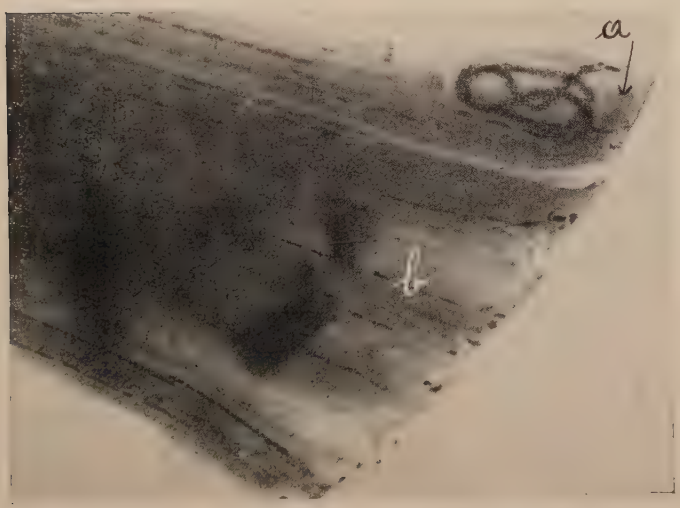

Fig. 10 - Une microfilaire *O. volvulus* phagocytée par des fibres musculaires constituant le flexor de l'une des secondes pattes de *S. damnosum*. La microfilaire se trouve déjà entièrement dans une vacuole créée au sein du sarcoplasme des petites fibres musculaires ayant fusionnés au contact de la microfilaire. Comparer l'aspect du syncytium secondaire créé par la dite fusion des fibres musculaires *(a)* avec l'aspect des fibres à l'état normal *(b)*. Remarquer les mouvements caractéristiques de la microfilaire phagocytée.

sculaires constituant les muscles alaires (fig. 5) et flexors de la première et de la troisième paire de pattes.

Les raisons pour lesquelles, les grandes fibres musculaires longitudinales et dorso-ventrales phagocytent un nombre de microfilaires beaucoup plus considérable que les autres fibres musculaires thoraciques, sont dès

lors compréhensibles. Force nous était de reconnaître également que le volume comparativement grand des fibres musculaires constituant la musculature des flexors de la deuxième paire de pattes du *Simulium,* tout comme le grand volume des fibres musculaires longitudinales et dorso-ventrales, empêcherait souvent les microfilaires captives de se décoller durant leurs efforts de fuite. Nous faisons remarquer que cette fuite des microfilaires ne se produit qu'au moment de l'accolage aux fibres musculaires, car dès qu'une partie de la microfilaire est phagocytée, c'est à dire, quand la dite circonvolution se trouve déjà dans la vacuole, il est alors impossible à la microfilaire de s'échapper. Toutefois, comme nous l'avons déjà fait remarquer plus haut, la microfilaire phagocytée continue encore à se débattre longtemps dans la vacuole qui l'enveloppe (fig. 10 et 11).

Remarquons au passage, que les fibres musculaires ne contenant que quelques larves en « saucisse » provenant d'une infestation antérieure par l' *O. volvulus,* phagocytent également des microfilaires. Cela prouve que ces larves en « saucisse » d'une évolution abortive (Lebied, 1959) et non « larves évolutives ou évoluantes » comme on le pensait auparavant (Wanson, Henrard et Peel, 1945; Henrard, Peel et Wanson, 1946; Wanson, 1950) ne tuent pas le sarcoplasme de la fibre musculaire parasitée.

Nous ne pouvons passer sous silence le fait qu'il existe une disproportion remarquable dans le rapport numérique des fibres musculaires phagocytant des microfilaires au cours des expériences d'infestation de *S. damnosum,* et le taux des mêmes fibres musculaires montrant les formes en « saucisse » chez les mêmes Simulies, mais capturées, en train de piquer, dans un foyer endémique donné d'Onchocercose. Nous constatons, en effet, que le nombre des fibres musculaires que l'on trouve parasitées, chez les Simulies capturées en train de piquer, est remarquablement peu élevé en comparaison du nombre des fibres musculaires phagocytant des microfilaires au cours des expériences d'infestation de ces insectes. Ainsi, tandis que dans le premier cas, nous trouvons (Lebied, 1950) en moyenne, par Simulie infestée, 3 fibres musculaires parasitées par les formes en « saucisse » (avec un maximum de 12 fibres parasitées, un seul cas), nous trouvons dans le second cas, en moyenne 8 fibres musculaires contenant des microfilaires phagocytées, (avec des maxima de 21, 23 et 34 fibres infestées).

La même disproportion est observée également dans le rapport numérique des parasites que l'on trouve dans chacune des fibres musculaires thoraciques parasitées et dans l'ensemble de toutes ces fibres chez les Simulies infestées dans le premier et second cas. Ainsi, si nous trouvons (Lebied, 1950) en moyenne 1 forme en « saucisse » par fibre musculaire parasitée (avec des maxima, très rares, de 9, 10 et 12 parasites), et en moyenne 5 de ces parasites dans la totalité de ces fibres (avec des

Fig. 11 - Fragment d'une fibre musculaire montrant deux microfilaires phagocytées. Remarquer que les microfilaires se trouvent, chacune respectivement, en suspension dans une vacuole créée au sein du sarcoplasme de la dite fibre. Voir les mouvements caractéristiques des microfilaires phagocytées, peu de temps après la manifestation de ce phénomène cytophysiologique.

Fig. 12 - Les ondulations du sarcoplasme épousant nettement les moindres mouvements de la microfilaire en train d'être phagocytée par une fibre musculaire.

Fig. 13 - Flexor de l'une des secondes pattes de *S. damnosum*. A noter les fines fibres musculaires le composant. Remarquer quatre microfilaires *O. volvulus* phagocytées (A, B, C, D).

maxima, très rares, de 28, 32 et 33 parasites), par *Simulium* parasité et capturé en train de piquer dans un foyer endémique d'Onchocercose, nous trouvons chez les mêmes insectes, mais impliqués dans nos expériences d'infestation, en moyenne, 7 microfilaires par fibre musculaire parasitée (avec un maximum de 14 parasites, cas très fréquent), et en moyenne 31 microfilaires dans la totalité des fibres musculaires (avec des maxima de 47, 80 et 127 parasites). Aujourd'hui, quand sont connus le mécanisme de l'infestation de l'arthropode par les microfilaires et le mécanisme de l'effet léthale du régime alimentaire de la larve filarienne en évolution intrasyncytiale, pour l'organisme de l'hôte intermédiaire (Lebied, 1959) nous pouvons dire, désormais, que les disproportions invoquées seraient dues à la grande hécatombe qui frappe, dans leurs refuges, les hôtes intermédiaires infestés, au cours de la digestion du repas infectant. Il en résulte que les Simulies parasitées et capturées piquant dans un foyer endémique d'Onchocercose, sont uniquement celles qui ont pû échapper à cette hécatombe grâce à une infestation peu importante. Notons que nous avons vérifié ce fait par l'application de la nouvelle méthode (Lebied, 1959) permettant l'identification de l'âge physiologique des Diptères, cette vérification réfutant d'ailleurs l'allegation (Lewis, 1957) disant que les Simulies nullipares, capturées piquant, peuvent également héberger des larves filariennes, car ce sont uniquement les multipares, capturées piquant (après qu'elles ont accompli la ponte), qui hébergent des larves en « saucisse » d'une évolution abortive et des larves infectieuses (*).

Notons encore l'explication de deux autres disproportions d'une apparence, a première vue, également irrégulière, constatées au cours de cette étude, bien connues d'ailleurs dans toutes les expériences de l'infestation d'arthropodes par des microfilaires, mais dont le problème est resté entier, parce que le mécanisme cellulaire déterminant de la dite infestation est demeuré longtemps méconnu. Nous avons constaté notamment le fait que la valeur de l'infestation varie fortement d'une Simulie à l'autre, s'étant gorgées cependant le même jour, sur le même porteur d'*O. volvulus* (toujours sur les membres inférieurs de celui-ci) et fixées au même laps de temps après le repas sanguin. Par exemple, dans un cas où 3 Simulies ont été fixées 2h 56 minutes après l'absorption des microfilaires, la totalité de leurs fibres musculaires a montré respectivement 1, 23 et 78 microfilaires phagocytées. D'autre part, nous notons également, dans les mêmes conditions de l'expérience, des Simulies ne montrant cependant aucune microfilaire, ni dans l'estomac, ni dans le cardia, ni

(*) A retenir, l'explication physiologique (Lebied, 1959) de la corrélation entre la durée des deux cycles évolutifs: cycle gonotrophique chez l'insecte et cycle évolutif de la larve filarienne.

dans les cavités thoracique et abdominale, ni dans les fibres musculaires, même plusieurs heures après qu'elles se sont gorgées sur le porteur d'*O. volvulus*.

Prenant en considération que d'une part, il n'y a pas de « pénétration active et délibérée » des microfilaires dans les fibres musculaires, mais bien phagocytose de ces germes par les dites fibres, et d'autre part, que la durée d'un repas sanguin peut aller de 1 a 5 minutes, suivant la fa-

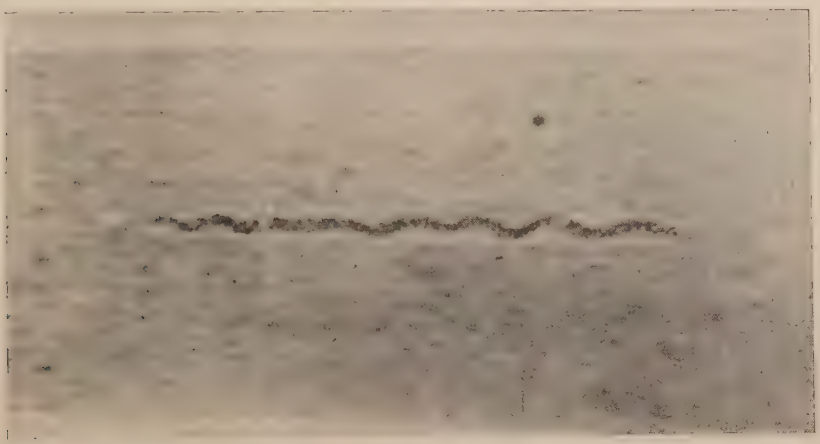

Fig. 14 - Une microfilaire *O. volvulus* phagocytée par une fibre musculaire. Aspect de la position et de la situation de la microfilaire et de la vacuole qui l'emprisonne par rapport à l'axe d'orientation des fibrilles, quelques heures après l'accomplissement de la phagocytose.

cilité pour l'une ou l'autre Simulie de trouver, plus ou moins rapidement, une capillaire, nous estimons que les disproportions invoquées, concernant la variabilité de la valeur de l'infestation et l'absence de la dite infestation, seraient dues, à la quantité de suc dermique, absorbée ou non, par telle ou telle autre Simulie, avant qu'elle ne parvienne à se gorger de sang.

Il s'en suit que les allégations suivantes, résultant de l'ignorance, à l'époque, du mécanisme cellulaire déterminant de l'infestation des Simulies par les microfilaires *O. volvulus*, sont dépourvues de fondement: 1° « l'attraction microfilarienne » par la salive de l'insecte (Strong, 1934; Strong, 1933); 2° « la spécificité » de l'espèce microfilarienne donnée par rapport à « un type particulier de tissu » dans lequel elle se développe « suite à une tendance physiologique » (Lavoipierre, 1958); 3° « l'importance » de la connaissance (Lewis, 1957) de « la structure particulière de l'abdomen » de la Simulie, « qui permettrait à cette dernière l'absorption de grandes quantités de sang » (*). Trois allégations peu surprenantes, vu la prédominance, à l'époque, de la croyance en la « pénétration active

(*) A noter, que les microfilaires *O. volvulus* ne se trouvent pas dans le sang du porteur, mais dans son suc dermique.

et délibérée » des microfilaires dans les fibres musculaires thoraciques de l'insecte, croyance dépourvue de tout fondement.

Pour conclure, notons que la cause pour laquelle, dans les expériences de l'infestation des *S. damnosum* par les microfilaires *O. volvulus*, on constate fréquemment qu'un certain nombre d'insectes impliqués ne s'infestent pas, tout en absorbant cependant la même quantité de suc dermique (contenant des microfilaires) que d'autres Simulies, qui, elles, s'infestent fortement, est trouvée également dans le cadre de la connaissance du mécanisme cellulaire déterminant de cette infestation. Il s'agit d'une simple suite des faits. Partant notamment de la considération que la cause du phénomène indiqué doit être recherchée dans les différences de l'état physiologique des fibres musculaires, conditionnant le différent degré de la viscosité du sarcoplasme de celles-ci chez les Simulies nullipares et multipares, nous avons eu recours à une sèrie d'expériences complémentaires. En appliquant conséquemment, et à tour de rôle, la méthode de Best pour détecter le glycogène dans les fibres musculaires thoraciques chez les Simulies capturées en train de piquer et la nouvelle méthode permettant l'identification de l'âge physiologique des Diptères (Lebied, 1959), nous avons trouvé:

1) la présence d'une quantité, parfois considérable, de glycogène dans les fibres musculaires thoraciques chez un certain nombre des Simulies multipares. La dite quantité de glycogène variant toutefois, chez la même Simulie, d'une fibre musculaire à l'autre.

2) la présence très réduite de glycogène dans les fibres musculaires chez toutes les Simulies nullipares examinées. Le sarcoplasme étant donc, chez elles, plutôt homogène.

Force nous est donc de conclure, comme prévu, que l'irrégularité constatée dans les expériences de l'infestation des Simulies par les microfilaires *O. volvulus* serait due à la différence de l'état physiologique du sarcoplasme des fibres musculaires chez les insectes impliqués. En conclusion, ce sont les Simulies nullipares qui seront susceptibles de s'infester à 100% et très fortement, tandis que les multipares ne s'infesteront que partiellement ou pas du tout. Ce fait est à retenir, car il constitue le chainon manquant dans l'explication (Lebied, 1959) de la raison pour laquelle, dans la faune des Simulies multipares, capturées en train de piquer, dans un foyer endémique donné d'Onchocercose, ce sont en majorité les insectes du premier et du deuxième degré de multiparité qui présentent des larves filariennes au stade « saucisse » ou au stade larves infectieuses. Nous avons donc une raison de plus de réaffirmer (Lebied, 1959), que les larves filariennes au stade « saucisse » que l'on trouve chez les Simulies capturées en train de piquer, ne sont pas des larves « évoluantes ou évolutives », comme on le croyait auparavant

(Wanson, Henrard et Peel, 1945; Henrard, Peel et Wanson, 1946; Wanson, 1950) mais des larves d'une évolution abortive (*), datant d'une infestation antérieure mais comparativement légère, et qui a précisément permis à ces Simulies parasitées de survivre à la grande hécatombe qui les frappe dans leurs refuges (Lebied, 1959). Ce sujet intéressant l'épidémiologie d'Onchocercose sera traité dans un travail ultérieur.

Notre interprétation du rôle que joue l'état physiologique des fibres musculaires des Simulies dans le processus de l'infestation de celles-ci par les microfilaires *O. volvulus* est intéressant encore d'un autre point de vue. Effectivement, l'effet d'un jeûne prolongé des insectes pour la réussite d'une infestation expérimentale de ceux-ci par des microfilaires, étant empiriquement connu de longue date, c'est aujourd'hui seulement que nous pouvons donner l'explication physiologique de ce fait. En effet, la rigueur avec laquelle le jeûne des insectes impliqués est fait, est importante, en réalité, non point du fait d'affamer les insectes (Wanson, Henrard et Peel, 1945; Wanson, 1950) mais du fait que ce traitement rende les insectes physiologiquement aptes à l'infestation. Car de ce qui précède, il est clair que ceux-ci s'infestent par les microfilaires non pas uniquement du fait du jeûne, mais parce que la phagocytose des germes en cause par les fibres musculaires ne s'effectue que dans des conditions bien déterminées de l'état physiologique du sarcoplasme de ces cellules: le sarcoplasme chargé de glycogène n'agit pas au contact des microfilaires, car sa viscosité est nulle.

CONCLUSIONS

Il n'y a pas le moindre doute que cette étude, montrant pour la première fois, la signification cytophysiologique du processus de l'infestation de l'insecte par des microfilaires, telle qu'elle découle du développement des idées déja énoncées (Lebied, 1957), est de nature à écarter définitivement le mythe scientifique de la « pénétration active et délibérée » des microfilaires non seulement dans les fibres musculaires thoraciques de l'insecte, mais également dans ses autres cellules, telles que, adipocytes et les cellules composant les tubes de Malpighi. Cette mise au point concernant le comportement méconnu des fibres musculaires thoraciques (dont la fonction était regardée jusqu'à présent comme étant essentiellement motrice) de l'insecte en tant que phagocytes, prend toute sa valeur quand on sait que ces syncytium préexistants à l'infestation (Lebied, 1957) sont, contrairement à une opinion assez insolite en Entomologie (Wanson, 1950), des cellules nues, n'ayant, en effet, ni de sarcolème, ni de perimysium. Selon

(*) Comme cela a déjà été dit plus haut, nous aborderons le sujet des relations filario-énergidiques, en cause, dans le travail complet annoncé.

toutes les données concernant l'évolution intrasyncytiale (Lebied, 1950; Lebied, 1957) des autres Filariata encore, s'effectuant également dans les fibres musculaires thoraciques de leurs hôtes intermédiaires respectifs (Lavoipierre, 1958), force nous est de nous convaincre, que le processus cytophysiologique déterminant de l'infestation de ces derniers par des microfilaires, serait absolument identique à la description donnée de la manifestation de ce mécanisme cellulaire aboutissant à la phagocytose des microfilaires chez les Simulies qui se gorgent sur un porteur d'*O. volvulus*. De même, sont réfutées toutes les allégations confondant le processus de l'infestation de l'insecte par des microfilaires avec l'absorption de celles-ci dans un repas ingéré par l'arthropode et où une « absorption sélective » conditionnée par la « longueur de la trompe » de l'insecte et « l'attraction microfilarienne » par la salive de celui-ci «joueraient un rôle prépondérant» dans l'accomplissement de ce processus.

Il s'en suit, et nous tenons à le souligner, que si c'est la première fois qu'est signalée la phagocytose des germes pathogènes par des fibres musculaires, donc par des cellules non-amiboïdes, et sans émission de pseudopodes, celle-ci n'est pourtant qu'un cas particulier de cette forme de phagocytose connue déjà dans la littérature (Aron et Grassé, 1939). C'est de plus une démonstration de la réalité du fait que la phagocytose des germes pathogènes n'aboutit pas nécessairement à la digestion de ceux-ci, comme le veut la notion primitive de ce phénomène, avancée par Metchnikoff (Aron et Grassé, 1939). Tout au contraire même, la phagocytose des microfilaires par les fibres musculaires thoraciques de l'insecte et la localisation intrasyncytiale des parasites qui en découle, marchent de paire avec les exigences nutritives bien spécifiques des larves filariennes en évolution intrasyncytiale, ne se nourissant guère que des matières de réserve figurées, glycogène et corps albuminoïdes, élaborées et emmagasinées en grandes quantités par les syncytium parasités (Lebied, 1957; Lebied, 1959).

Dans un autre ordre d'idées, nos observations et déductions concluantes sur la phagocytose des microfilaires par les fibres musculaires thoraciques chez les insectes, jointes à celles déduites de la découverte (Lebied 1957) du mécanisme cellulaire aboutissant à la création des syncytium filariens, impliquent obligatoirement, comme pour toute autre manifestation de la phagocytose des germes pathogènes, l'existence d'une affinité bien déterminée de tel ou tel autre système de cellules chez l'arthropode à un ferment bien spécifique à chaque espèce microfilarienne. Ce sont ces ferments (aujourd'hui encore hypothétiques) secrétés par les microfilaires et enduisant celles-ci, qui provoqueraient dans des cellules bien déterminées et à leur contact, une telle modification de la tension superficielle des protoplasmes intéressés qui favoriserait l'accolage et la phagocytose des mi-

crofilaires. Il s'en suit que l'accomplissement de cette phagocytose est d'emblée, comme toute autre phagocytose connue, la manifestation du patrimoine élémentaire de toute cellule d'ingérer le corps qui vient provoquer l'augmentation de la viscosité du protoplasme de la dite cellule.

L'explication cytophysiologique du processus de l'infestation de l'arthropode par des microfilaires, aboutissant à la localisation intrasyncytiale du cycle évolutif des Filariata, réfute complètement la réalité de toutes les allégations disant: « *In appropriate arthropods* the microfilariae migrate out of the digestive tract into the hemocele, and *in suitable locations* (frequently the thoracic muscles) metamorphose into first, and later into more advanced larval stages » (Craig and Faust, 1945, p. 356), ou « ... each species of filarial nematode *appears to exhibit a high degree of specificity as regarde the particular type of tissue* in which it develops, *a tendency which may be related to the physiological requirements* of the developing worm » (Lavoipierre, 1958, p. 330). Allégations communément admises dans tous les Précis de Parasitologie, bien qu'elles ne soient pas explicatives au point de vue de la physiologie, car elles résultent simplement d'une spéculation téléologique et finaliste.

La mise au point de la signification cytophysiologique du processus de l'infestation de l'arthropode par des microfilaires et la connaissance du mécanisme des relations filario-énergidiques (Lebied, 1957), déterminants du destin de l'évolution intrasyncytiale des Filariata, qui en découle, sont d'une grande importance biologique et épidémiologique. En effet, l'explication physiologique, longtemps méconnue (Brumpt, 1949), de la signification réelle de l'hôte intermédiaire dans le cycle évolutif des parasites hétéroxènes est enfin trouvée pour l'ordre zoologique entier des Filariata.

Ce n'est donc pas « par le plus grand des hasards » qu'un arthropode devient hôte intermédiaire de telle ou telle autre Filaire; l'hôte intermédiaire n'est pas « un équivalent du milieu extérieur » pour le parasite; il n'est pas non plus le résultat de quelque « aptitude » permettant l'évolution des germes; il n'est pas non plus « un habitat fortuit suffisant à assurer la perpétuité du parasite ». La double découverte (Lebied, 1957) des mécanismes cellulaires déterminants de l'infestation de l'arthropode par des microfilaires et du mecanisme des relations filario-énergidiques réfute complètement les allégations citées et communément admises en Parasitologie (Brumpt, 1949). En effet, elle montre indubitablement que l'hôte intermédiaire de telle ou telle autre espèce filarienne, n'est pas le résultat de quelque « intercalation fortuite » dans le cycle évolutif de la Filaire, mais qu'il est la conséquence physiologique du manque absolu de toute affinité des cellules chez l'hôte définitif respectif à l'action des ferments produits par les microfilaires. Bien que ces ferments soient aujourd'hui encore inconnus, la constance des processus cytophysiologiques de l'infes-

tation des arthropodes par les microfilaires dans lesquels et invariablement sont toujours impliquées des cellules bien déterminées (fibres musculaires thoraciques, adipocytes et les cellules composant les tubes de Malpighi), prouve non seulement l'existence réelle de ces ferments, mais qu'ils sont également bien spécifiques à chaque espèce microfilarienne. Or, si les ferments en cause sont encore à identifier cela n'empêche pourtant pas de comprendre que la découverte de la signification cytophysiologique du processus de l'infestation d'arthropodes par des microfilaires, (signification qui n'avait jamais ètè envisagée), est décidément une acquisition épidémiologique de la plus grande valeur. Elle comporte notamment, comme nous l'avons évoquée plus haut, la découverte de la signification physiologique des vecteurs des Filarioses. Effectivement, cette grave lacune concernant le mécanisme déterminant de l'avènement des vecteurs parmi des arthropodes infestés journellement, par telle ou telle autre espèce microfilarienne, ne peut être comblée qu'à la condition de connaitre les relations filario-énergidiques (Lebied, 1957) déterminants de l'achèvement ou de la suppression de l'évolution intrasyncytiale de l'espèce filarienne donnée.

Ainsi que nous l'exposerons en détail dans le travail complet annoncé plus haut, ces nouvelles connaissances sont indispensables pour comprendre l'enchaînement des phénomènes épidémiologiques, tels qu'ils sont déclenchés par la manifestation des processus cytophysiologiques, déterminants de la localisation intrasyncytiale du cycle évolutif des Filariata. La mise en évidence d'un nombre de problèmes (Lebied, 1960) et dont la solution dépend de la connaissance des mécanismes évoqués, prouve que le travail envisagé est indispensable.

Il est certain que l'illustration de la signification physiologique de l'arthropode dans le cycle évolutif des Filaires entraînera également de fructueuses révisions dans les études concernant le cycle évolutif des autres parasites hétéroxènes, tels que: *Plasmodium, Schistosoma, Fasciola,* etc... Là, également, existent des problèmes non résolus par le manque de connaissances sur les rapports anatomiques et physiologiques entre l'organisme de l'hôte invertébré (vecteur) et celui des parasites mentionnés, une lacune dont l'inconvénient se fait fâcheusement sentir dans les épidémiologies respectives.

REMERCIEMENTS: Je tiens tout spécialement à remercier Messieurs Salaku Léon, garde sanitaire à Léopoldville et Mossanghe Emmanuel, garde sanitaire à Kabunambo, pour l'aide qu'ils mont apportée, en dehors de leurs heures de service, pour la capture des Simulies. J'exprime, également, mes remerciements particuliers à ma femme, pour l'aide morale et l'encouragement quelle m'a donnés pour mener ce travail à bonne fin.

INTRODUZIONE ALLA TEORIA DELL'EVOLUZIONE INTRASINCIZIALE DEI FILARIATA. I. SULLA FAGOCITOSI DELLE MICROFILARIE DI *ONCHOCERCA VOLVULUS* DA PARTE DELLE FIBRE MUSCOLARI TORACICHE, IN *SIMULIUM*.

La rigorosa verifica della genesi della credenza nella « penetrazione attiva e deliberata » delle microfilarie nelle fibre muscolari toraciche, o negli adipociti, o nelle

cellule dei tubi malpighiani dell'artropodo dimostra innegabilmente che essa, da vari decenni ben radicata in parassitologia, è un'idea preconcetta, finalista e non fisiologica. E' appunto tale credenza ed un metodo impreciso di dissezione dei vettori che hanno falsato per tanto tempo ogni apprezzamento citofisiologico del processo di infestazione dell'artropodo da parte delle microfilarie, uno dei problemi epidemiologici più misconosciuti e tuttavia dei più importanti in quanto pietra angolare della ricerca del significato fisiologico dell'artropodo nel ciclo evolutivo dei Filariata. L'argomentazione che confonde, sempre ed invariabilmente, la manifestazione di tale infestazione con l'ingestione da parte dell'artropodo di un pasto contenente microfilarie o uova di Filariata, è in effetti uno degli spiacevoli risultati di questa routine nella ricerca; l'altro risultato, non meno spiacevole, è il fatto che la precisa definizione del ciclo evolutivo dei Filariata è rimasto a lungo misconosciuto, e ciò nonostante il numero sempre crescente di descrizioni degli stadi evolutivi, d'altronde sensibilmente gli stessi, di numerose specie di filarie.

Mediante la dettagliata descrizione della fagocitosi delle microfilarie di *O. volvulus* da parte delle fibre muscolari di *S. damnosum*, nutrito su un oncocercosico, l'A. presenta con precisione lo svolgimento del meccanismo cellulare che determina l'infestazione dell'artropodo e che porta alla localizzazione intrasinciziale del ciclo evolutivo di numerose altre specie di filarie, precisamente nelle fibre muscolari toraciche. Sono fornite le prove che si tratta realmente di fagocitosi delle microfilarie da parte delle fibre muscolari, fagocitosi effettuantesi d'altronde senza emissione di pseudopodi da parte di tali fagociti.

La valutazione citofisiologica del processo di infestazione dell'artropodo da parte delle microfilarie, e la conoscenza precisa del fatto che tale processo si identifica con i meccanismi cellulari che determinano la localizzazione intrasinciziale del ciclo evolutivo dei Filariata, sono di primaria importanza nella spiegazione fisiologica della genesi dei vettori delle filariosi. In effetti la grave lacuna riguardo all'esistenza di un meccanismo determinante il divenire fisiologico di vettori tra gli artropodi giornalmente infestati dall'una o dall'altra specie di filaria, non può essere colmata che a condizione di conoscere le relazioni filario-energidiche che determinano il compimento o la soppressione dell'evoluzione intrasinciziale di una data specie di filaria.

Ora le ricordate relazioni filario-energidiche derivano dal fatto stesso della manifestazione dei meccanismi cellulari che determinano l'infestazione degli artropodi da parte delle microfilarie e la localizzazione di queste in cellule sempre polinucleate, quindi poliencrgidi.

Senza alcun dubbio la precisa conoscenza del determinismo della genesi fisiologica di ospiti intermedi pertinenti al ciclo evolutivo di un intero ordine zoologico di parassiti eteroxeni significa il completo capovolgimento delle speculazioni pseudo-evoluzioniste, teleologiche e finaliste profondamente radicate da tanto tempo in parassitologia appunto per la mancanza di conoscenze sui meccanismi determinanti l'eteroxenia in un gran numero di parassiti.

La scoperta dei meccanismi determinanti l'infestazione degli artropodi da parte delle microfilarie, dimostra indirettamente che l'eteroxenia dei Filariata deriva precisamente dalla presenza di tali meccanismi negli Artropodi e dalla loro assenza nei Vertebrati. La teoria dell'esistenza di fermenti delle microfilarie e dell'affinità di tre sistemi di cellule ben determinate per l'uno o l'altro di questi fermenti deve essere tenuta presente nella spiegazione fisiologica del fenomeno dell'eteroxenia dei Filariata.

Il presente lavoro è il primo che fa seguito alla nota preliminare sulla scoperta dei fattori, interno ed esterno, determinanti il ciclo evolutivo dei Filariata negli artropodi.

INTRODUCTION TO THE THEORY OF THE INTRASYNCYTIAL DEVELOPMENT OF THE FILARIATA. I. ON THE PHAGOCYTOSIS OF THE MICROFILARIAE *ONCHOCERCA VOLVULUS* BY THE THORACIC MUSCLE FIBRES IN *SIMULIUM*.

The rigorous verification of the genesis of the belief in the « active and deliberate penetration » of the microfilariae in the thoracic muscle fibres, or in the adipocytes or in the cells composing the Malpighian tubules of the arthropods proves that this belief though it is since many years established in parasitology, constitutes nevertheless a preconceived, finaliste and non physiological idea. Now precisely this belief and a defective method of dissection of the vectors, have for a long time prevented of any cytophysiological appreciation on the process of the infestation of the arthropods by microfilariae, one of the epidemiological problems the most unknown and never-

theless the most important, in as much as it is the basis in the research on the physiological signification of the arthropod in the life cycle of Filariata.

In the present author's view this above mentioned belief which always and invariably confuses the manifestation of this infestation with the ingestion itself by the arthropod of meals containing microfilariae or eggs of the Filariata, is, in fact, one of the regrettable results of this routine in research works; the other result not less regrettable being the fact that the exact sites in the body of the arthropods in which the filarial nematodes performs its development were been for a long time ignored, and this notwithstanding the increasing number of descriptions on the filarial stages, besides, nearly the same of all the species of Filariata.

By the detailed description of the phagocytosis of the microfilariae *O. volvulus* by the thoracic muscle fibres of *S. damnosum*, fed on a onchocercian carrier, the author presents with precision the manifestation of the cellular mechanisme which determines the infestation of the arthropod by the microfilariae, a cytophysiological process leading to the intrasyncytial localisation of the life cycle not only of *O. volvulus* but also the life cycle of many others nematodes, precisely in the thoracic muscle fibres of the arthropods. Evidence has been given that we are, there, in front of real phagocytosis of the microfilariae by the thoracic muscles fibres, phagocytosis carried out, besides, without any emission of pseudopodes by these phagocytes.

The cytophysiological evaluation of the infestation process of the arthropods by the microfilariae, and the exact knowledge of the fact that this process identifies itself with the cellular mechanismes determinating of the intrasyncytial localisation of the life cycle of the Filariata, are the basis of the physiological explanation of the vector's genesis in filariasis. Indeed the lack produced by the ignorance, at that time, of the existence of the cellular mechanismes determining the vector's physiological advent amongst the artropods, everyday infested by one or another species of microfilariae, can only be filled unless the filario-energidical relationships determining the completion or the suppression of the intrasyncytial development of a given filarial species are known. Now the filario-energidical relationships derive from the very fact of the cellular mechanisme manifestation determining the infestation of the arthropods by the microfilariae and from its localisation always in polynucleated cells, therefore polyenergids.

No doubt that the exact knowledge on the determinisme of the physiological advent of intermediate hosts in the development of an all zoological ordre of heteroxenous parasites, means the complete upsetting of the pseudo-evolutionists, teleological and finalists speculations, all deep-rooted since a long period of time in parasitology, and precisely due to the ignorance, at that time, of the existence of mechanismes determining the heteroxeny in a large number of parasites.

The discovery of the cellular mechanismes determining the infestation of the arthropods by microfilariae demonstrates indirectly that the heteroxeny of Filariata derives precisely from the presence of such mechanismes within the body of the arthropods and of their non existence within the body of the vertebrates. The theory of existence of ferments within the body of the microfilariae and of the affinity of three systems of cells, well determined for one or the other of these ferments must be brought into consideration in the physiological explanation of the heteroxeny at the Filariata.

The present paper is the first part of studies following the preliminary note on the internal and the external factors determining the intrasyncytial development of the Filariata in the arthropods.

BIBLIOGRAPHIE

ANDERSON, R.C. (1956) - The life cycle and seasonal transmission of *Ornithofilaria fallisensis* Anderson, a parasite of domestic and wild ducks. *Canad. J. Zool., 34,* 485.

ARON, M., et GRASSE, P (1939) - Précis de Biologie Animale. Masson et Cie., Editeurs. Paris.

BERNARD, P.N., et BAUCHE, J. (1913) - Conditions de propagation de la filariose sous-cutanée du chen, *Stegomyia fasciata* hôte intermédiaire de *Dirofilaria repens. Bull. Soc. Path. exot., 6,* 89.

BERTRAM, D.S. (1957) - The transmission of experimental filariasis. In « Biolo-

gical aspects of the transmission of disease », ed. C. Horton-Smith, p. 113. Edin., Lond.: Oliver and Boyd.

BLACKLOCK, D. B. (1926 a) - The development of *Onchocerca volvulus* in *Simulium damnosum*. *Ann. Trop. Med. Parasit., 20,* 1-40.

BLACKLOCK, D. B. (1926 b) - The further development of *Onchocerca volvulus* Leuckart in *Simulium damnosum* Theob. *Ann. Trop. Med. Parasit., 20,* 203-216

BRUMPT, E. (1949) - Précis de Parasitologie. Masson et Cie., Editeurs, Paris.

CHARDOME, M., et PEEL, E. (1949) - La répartition des filaires dans la région de Coquilhatville et la transmission de *Dipetalonema streptocerca* par *Culicoïdes grahami*. *Ann. Soc. Belge Med. Trop., 29,* 99.

CHARDOME, M., et PEEL, E. (1951) - Recherches sur la répartition des Filaires dans la région de Coquilhatville et la transmissione de *Dipetalonema streptocerca* par *Culicoïdes grahami,* Austen. *Inst. R. Colon. Belge. 19,* 3-83.

CONNAL, A., and CONNAL, S.L.M. (1922) - The development of *Loa loa* (Guyot) in *Chrysops silacea* (Austen) and in *Chrysops dimidiata* (Van der Wulp). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 16,* 64-89.

CRAIG, C.F., and FAUST, E. C. (1945) - Clinical Parasitology. Lea & Febiger, Philadelphia.

DALMAT, H. T. (1955) - The black flies (Diptera, Simuliidae) of Guatemala and their role as vectors of onchocerciasis. *Smithson. misc., coll., 125,* 1-425.

FULLEBORN, F. (1908) - Ueber Versuche an Hundefilarien und deren Uebertragung durch Mücken. *Arch. f. Schiffs - u. Tropen - Hyg., 12,* 313-351.

GEIGY, R., und HERBIG, A. (1955) - Erreger und Ueberträger tropischer Krenkheiten. Verlag für Recht und Gesellschaft. A G. Basel.

GRASSI, B., e NOE, G. (1900) - Propagazione delle filarie del sangue esclusivamente per mezzo della puntura di peculiari zanzare. *R. C. Accad. Lincei, 9,* 157.

HENRARD, C., PEEL, E., et WANSON, M. (1946) Quelques localisations de *Wuchereria bancrofti* Cobbold au Congo Belge. Cycle de développement chez *Culex fatigans* Wied, *Anopheles funestus* Giles, *Aëdes aëgypti* Linnaeus et *Anopheles gambiae* Giles, *Rec. Trav. Sci. Med. au Congo Belge. 5,* 3-23.

HOFFMANN, C. C. (1930) - Ueber *Onchocerca* im Süden von Mexiko und die Weiterentwicklung ihrer Mikrofilarien in *Eusimulium mooseri*. *Arch. f. Schiffs - u. Tropen - Hyg., 34,* 461-472.

HOFFMANN, C. C. (1931) - Estudios entomológicos y parasitológicos acerca de la oncocercosis en Chiapas. *Salubridad, 3,* 669-697.

HUGHES, T. E. (1950) - Some stages of *Litomosoides carinii* in *Liponyssus bacoti*. *Ann. Trop. Med. Parasit., 44,* 285.

IYENGAR, M. O. T. (1936) - Entry of Filaria larvae into the body cavity of the mosquito. *Parasitology, 28,* 190.

KERSHAW, W. E. (1958) - *Trop. Dis. Bull., 55,* 796.

KLEINE, F. K. (1915) - Die Uebertragung von Filarien durch *Chrysops*. *Z. Hyg. Infekt. Kr., 80,* 345-349.

LAVOIPIERRE M. M. J. (1958) - Studies on the Host-Parasite Relationships of Filaria Nematodes and their Arthopod Host. I: The sites of development and the migration of *Loa loa* in *Chrysops silacea,* the escape of the infective forms from the head of the fly, and the effect of the worm on its insect host. *Ann. Trop. Med. Parasit., 52,* 103-121.

LAVOIPIERRE, M. M. J. (1958) - Studies on the Host-Parasite Relationships of Filarial Nematodes and their Arthropod Hosts. II: The arthropod as a host to the nematode: A brief appraisal of our present knowledge, based on a study of the more important literature from 1878 to 1957. *Ann. Trop. Med. Parasit., 52,* 326-345.

LEBIED, B. (1950) - Une nouvelle théorie endémiologique. Sur le rôle de la « fonction du parasitisme × mécanisme du vol du vecteur » comme facteur décisif de l'établissement du foyer de l'endémicité de l'Onchocercose et de filarioses en général. 54 pp. 2 pl, Dijon, Imprimerie Darantière.

LEBIED, B. (1957) - Iconographie de l'évolution intrasyncytiale de *Loa loa* chez *Chrysops*. (Note préliminaire sur les facteurs, interne et externe, déterminants du cycle évolutif des Filariata (Serjabin) chez leurs hôtes intermédiaires). *Ann. Soc. Belge Med. Trop., 37,* 641-645.

LEBIED, B. (1959) - Détermination de l'âge physiologique des Diptères. Nouvelle méthode basée sur la recherche des vestiges du processus de l'ovulation. *Riv. Parass., 20,* 91-106.

LEBIED, B. (1960) - Mise au point à propos d'une nouvelle méthode de dissection des vecteurs des Filarioses. Le but de cette méthode. *Riv. Parass.*, *21*, 71-79
LEWIS, D. J. (1953) - *Simulium damnosum* and its relation to onchocerciasis in the Anglo-Egyptian Sudan, *Bull. Ent. Res.*, *43*, 597.
LEWIS, D. J. (1957) - Aspects of the Structure, Biology and Study of *Simulium damnosum*. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, *51*, 340-358.
MACKERRAS, M. J. (1953) - Lizard Filaria: transmission by mosquitoes of *Oswaldofilaria chlamydosauri* (Breinl) (Nematoda: Filarioidea). *Parasitology*, *43*, 1.
MANSON-BAHR, P. H. (1957) - Manson's Tropical Diseases. Fourteenth Edition. Cassel and Company. London.
MACKIE, T. T., HUNTER, G. W., and WORTH, C. B. (1945) - A Manual of Tropical Medicine. W. B. Saunders Company. Philadelphia and London.
NELSON, G. S. (1958) - Staining of Filarial larvae in Insects before dissection. *Bull. Org. Mond. Santé*, *19*, 204.
NELSON, G. S. (1959) - The Identification of Infective Filarial Larvae in Mosquioes: with a Note on the Species Found in « Wild » Mosquitoes on the Kenya Coast. *Journ. Helminth.* *33*, 233-256.
NEVEU-LEMAIRE, M. (1936) - Traité d'Helminthologie médicale et vétérinaire. Vigot Frères, Editeurs. Paris.
NEWTON, W. L., and WRIGHT, W. H. (1956) - The occurence of a dog filariid other than *Dirofilaria immitis* in the United States. *J. Parasit.* *42*, 246.
NOE, G. (1901) - Sul ciclo evolutivo della *Filaria bancrofti* (Cobbold) e della *Filaria immitis* (Leidy). *Ric. Lab. Anat. norm. Univ. Roma*, *8*, 275.
NOE, G. (1903) - Studi sul ciclo evolutivo della *Filaria labiatopapillosa* Alessandrini: nota preliminare. *R. C. Accad. Lincei*, *12*, 387.
O. M. S. (1954) - Comité d'Experts de l'Onchocercose. Premier rapport, N. 87. Genève.
PISTEY, W. R. (1956) - Studies on the mosquito transmission of *Dirofilaria tenuis* Chandler. *J. Parasit.*, *42*, 16.
ROUBAUD, E., et DESCAZEAUX, J. (1921) - Contribution à l'Histoire de la Mouche domestique comme agent vecteur des Habronémoses d'Equidés. Cycle évolutif et parasitisme de l'*Habronema megastoma* (Rudolphi, 1819) chez la mouche. *Bull. Soc. Path. Exot.*, *14*, 471-506.
SHARP, N. A. D. (1928) - *Filaria perstans;* its development in *Culicoïdes austeni*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, *21*, 371-396.
STEVENSON, A. C. (1922) - The cycle of *Filaria Loa* in *Chrysops dimidiata* as elucidated by Dr. A. Connal and S.L.M. Connal. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, *16*, 270.
STRONG, R. P., SANDGROUND, J. H., BEQUAERT, J. C., and OCHOA, M. M. (1934) - Onchocerciasis with special reference to the Central American form of the disease. Cambridge University Press. 234 pp.
STRONG, R. P., HISSETTE, J., SANDGROUND, J. H., and BEQUAERT, J. C. (1939) - Onchocerciasis in Africa and Central America. *Amer. J. Trop. Med.* *18*, 1-136.
SYMPOSIUM on LOIASIS (1955) - *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, *49*, 98-157.
VARGAS, L. (1942) - Algunas consideraciones sobre el desarrollo de *Onchocerca volvulus* en los simulidos. *Rev. Inst. Salubr. Enferm. trop., Mex. 3*, 57-65.
WANSON, M., HENRARD, C., et PEEL, E. (1945) - *Onchocerca volvulus* Leuckart Indices d'infection des Simulies agressives pour l'homme. Cycle de développement chez *Simulium damnosum* Theobald. *Rec. Trav. Sci. Med. au Congo Belge*, *4*, 122-137.
WANSON, M. (1950) - Contribution à l'étude de l'Onchocercose africaine humaine (problèmes de prophylaxie à Léopoldville). *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, *30*, 667-863.
WANSON, M., et RODHAIN, J. (1953) - Développement abortif de *Loa papionis* chez divers arthropodes. Insuccès du traitement à la Diéthylcarbamazine dans la Filariose diurne du Babouin. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, *33*, 177-184.
WILLIAMS, R. W. (1948) - Studies on the life cycle of *Litomosoides carinii*, filariid parasite of the cotton rat, *Sigmodon hispidus litoralis*. *J. Parasit.*, *34*, 24.
WITENBERG G., and GERICHTER, C. (1944) - The morphology and life history of *Foleyella duboisi* with remarks on allied filariids of amphibia. *J. Parasit.*, *30*, 245.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 2 - Giugno 1961

INDAGINE SUI CASI DI LATRODECTISMO VERIFICATISI NEGLI ANNI DAL 1938 AL 1958 IN ALCUNE PROVINCE D'ITALIA - NOTA IV - PROVINCIA DI LATINA.

SERGIO BETTINI (*)

I dati riguardanti i casi di latrodectismo ricoverati negli ospedali della Provincia di Latina durante gli anni dal 1938 al 1958 sono stati raccolti e riportati nella presente nota. L'A. osserva fra l'altro che vi è stato un considerevole aumento dei casi negli anni dal 1946 al 1948, con una punta massima nel 1947.

Questa quarta nota riguardante i casi di latrodectismo (**) nella Provincia di Latina dal 1938 al 1958, è stata preceduta da note che hanno preso in esame rispettivamente le Provincie di Viterbo (2), di Grosseto (3) e di Roma (4). La prima comprendeva inoltre una rassegna della letteratura sulle epidemie di latrodectismo nel mondo.

Dai dati ottenuti si è rilevato che la frequenza dei casi di latrodectismo ha mostrato un notevole aumento negli anni fra il 1947 ed il 1950, in ciascuna delle tre Province.

Metodo — Il metodo impiegato nella valutazione dei dati raccolti presso gli istituti ospedalieri è stato ampiamente illustrato nella Nota 1 (2), alla quale rimandiamo il lettore.

Tuttavia, a differenza delle altre Province, ove l'indagine dei casi è stata effettuata esclusivamente negli ospedali, nella Provincia di Latina, grazie alla presenza nei registri ospedalieri dei numeri delle case coloniche ove i pazienti abitavano, e grazie alla facilità con cui l'ubicazione delle case coloniche poteva essere individuata, abbiamo potuto eseguire la ricerca dei pazienti stessi, dei quali mancava la storia clinica in ospedale, per interrogarli sui sintomi soggettivi che avevano presentato durante la loro degenza. Una buona parte dei pazienti, però, non è stata rintracciata causa cambiamento di domicilio.

(*) *Istituto Superiore di Sanità, Laboratori di Parassitologia, Roma.*

(**) Sindrome tossica causata dal morso del ragno *Latrodectus tredecimguttatus*, chiamato comunemente « ragno rosso volterrano, malmignatta, tarantola, bottone », ecc.

IL LATRODECTISMO NELLA PROVINCIA DI LATINA

I - *Caratteristiche geografiche della Provincia.*

La Provincia di Latina è costituita da una vasta pianura che si estende dall'Agro romano fino al Capo Circeo, da una zona collino-montagnosa che le corre parallela e da due pianure notevolmente più piccole, l'Agro di Fondi e l'Agro di Scauri. Il primo è separato dall'Agro romano dai Monti Ausoni e dall'Agro di Scauri dai monti Aurunci. Il livello delle zone di pianura è circa quello del mare, mentre la zona montagnosa raggiunge altezze di 1.500 m. Nelle zone di pianura si trovano gli ospedali di Latina, Terracina e Formia, mentre nella zona collinosa si trova l'ospedale di Priverno.

II - *Esame dei risultati e discussione.*

Una indagine è stata condotta presso gli ospedali della Provincia per ottenere dati sui ricoverati per latrodectismo dal 1938 al 1958. E' risultato che i soli ospedali di Latina, Priverno, Terracina e Formia (Tab. 1) hanno registrato ricoveri riferibili a latrodectismo. Tre di questi ospedali (Latina, Terracina e Formia) appartengono alle zone piane e basse della Provincia, mentre l'ospedale di Priverno appartiene ad una zona che comprende una parte collinosa ed una parte piana.

TABELLA 1

Ospedali ed infermerie della provincia di Latina positivi per casi di latrodectismo durante gli anni dal 1938 al 1958.

Sede	Denominazione	Categoria	N. posti letto	N. abitanti del Comune (1)
Latina	Ospedale Civile	III	92	29.362
Priverno	» »	III	50	13.253
Terracina	» »	Infermeria	30	26.107
Formia	Ospedale « Dono Svizzero »	non classif.	115	17.935

(1) Censimento del 31 dic. 1947.

Il numero totale dei ricoverati per punture o morsi di animali velenosi negli ospedali della Provincia di Latina dal 1938 al 1958 è riportato nella Tab. 2. Il numero dei casi di punture di serpenti velenosi (16 casi) è considerevolmente basso in rapporto al numero dei casi di morsi o punture di Artropodi (296). Poiché questa indagine è stata effettuata solo in una parte degli ospedali della Provincia, in quelli cioè ove esistevano ricoveri per latrodectismo, tanto il numero totale dei ricoverati per morsi o punture di Artropodi, quanto quello dei ricoverati per morsi di serpenti dovrebbero risultare, nella intera Provincia, indubbiamente più alti; e così anche il rapporto numerico fra i due tipi di ricovero potrebbe essere diverso. Fra i casi di punture o morsi di Artropodi, come risulta dalla Tab. 2, le punture di Imenotteri (6 casi) non rappresentano in vero il numero reale di essi poiché una buona parte dei casi « poco probabili » di latrodectismo, cioè

TABELLA 2

Totale dei ricoverati per puntura o per morso di animali velenosi negli ospedali ed infermerie della provincia di Latina (positivi per casi di latrodectismo) negli anni dal 1938 al 1958.

Ospedale o infermeria (sede)	Punture o morsi di Artropodi																Punt. di Imenotteri	Punt. di scorpioni	Morsi di serpenti		Casi a+b+c relativi a 1000 degenti	Casi a+b+c relativi a 1000 abitanti del Comune
	Morsi di *L. tredecimguttatus*																					
	Altamente probabili (a)				Probabili (b)				Poco probabili (c)				(a)+(b)+(c)									
	♂	♀	N. totale	%	♂	♀	N. totale	%	♂	♀	N. totale	%	♂	♀	N. totale	%	N. totale	N. totale	N. totale			
Latina (1) .	14	11	25	60,9	99	63	162	89,5	19	8	27	40,9	132	82	214	74,6	3	1	7	43,7	4,2	7,2
Priverno . .	9	3	12	29,5	9	4	13	7,2	18	8	26	39,3	36	15	51	17,6	1	0	2	12,5	3,6	3,8
Terracina (2)	2	0	2	4,8	5	0	5	2,7	4	4	8	12,1	11	4	15	5,2	2	0	6	37,5	1,2	0,5
Formia (3) .	1	1	2	4,8	1	0	1	0,7	2	3	5	7,5	4	4	8	2,7	0	1	1	6,2	0,3	0,4
Totali . . .	26	15	41		114	67	181		43	23	66		183	105	288		6	2	16			
%	63	37			63	37			65	35			64	36								

(1) Dati relativi agli anni 1941-58.
(2) Dati relativi agli anni 1947-58.
(3) Dati relati agli anni 1949-58.

quelli diagnosticati come « punture d'insetti », deve invece attribuirsi a punture di Imenotteri. In Italia, difatti, solo l'ordine degli Imenotteri, fra gli Insetti, comprende specie la cui puntura può provocare disturbi generali così gravi da richiedere il ricovero in ospedale.

I ricoverati per morso di *Latrodectus*, secondo il loro grado di attendibilità, sono più numerosi per il sottogruppo dei casi « probabili » (181 casi) (*); meno numerosi per il sottogruppo dei casi « poco probabili » (66 casi) (**) e per quello dei casi « altamente probabili » (41 casi).

Il rapporto-sessi dei pazienti dei sottogruppi « probabili » (37,1%), « poco probabili » (34,8%) ed « altamente probabili » (36,5%), sempre in favore dei maschi, presenta valori molto vicini fra di loro.

La frequenza più alta dei ricoverati per morsi di *Latrodectus* (totale dei casi secondo i vari gradi di probabilità) si osserva nell'ospedale di Latina (74,6% dei cas), mentre è minore per gli ospedali di Priverno (17,6%), di Terracina (5,2%) e di Formia (2,7%). Va ricordato però che la segna-

TABELLA 3

Totale delle degenze (medicina e chirurgia) registrate nei vari ospedali ed infermerie della Provincia di Latina (positivi per casi di latrodectismo) negli anni dal 1938 al 1958.

Ospedale o infermeria	1938	1939	1940	1941	1942	1943	1944	1945	1946	1947	1948
Latina	—	—	—	1318	941 *	1309	927	1941	2217	2805	2581
Priverno	374	374	332	429	455	560	676	743	703	657	653
Terracina	—	—	—	—	—	—	—	—	—	257	708
Formia	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	374	374	332	1747	1396	1869	1603	2684	2920	3462	3234

Ospedale o infermeria	1949	1950	1951	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	Totale
Latina	2498	2621	2923	3231	3210	3407	4101	4412	5052	5538	51.032
Priverno	599	711	686	727	884	786	825	763	1020	1118	14.075
Terracina	865	938	467	610	1039	1372	1355	1679	1800	1908	12.998
Formia	466	2127	2278	2471	2444	2489	2732	3195	3667	3749	25.618
	3097	3332	3609	3958	4094	4193	4926	5175	6072	6656	103.723

* No. parziale di degenti.

N.B. - Le somme rappresentano i soli dati di Latina e Priverno.

(*) Di questi, solo 2 casi (1,2%) appartengono alla suddivisione 3 dello schema A (vedi Nota I), quelli cioè per cui l'esame della cartella clinica poteva lasciare dubbi sulla diagnosi di latrodectismo riportata dal sanitario.

(**) Di questi, 25 casi (37,9%) appartengono alla suddivisione 2 dello schema A (vedi Nota I), quelli cioè controllati nelle cartelle cliniche, che decisamente non presentavano la sintomatologia propria del latrodectismo.

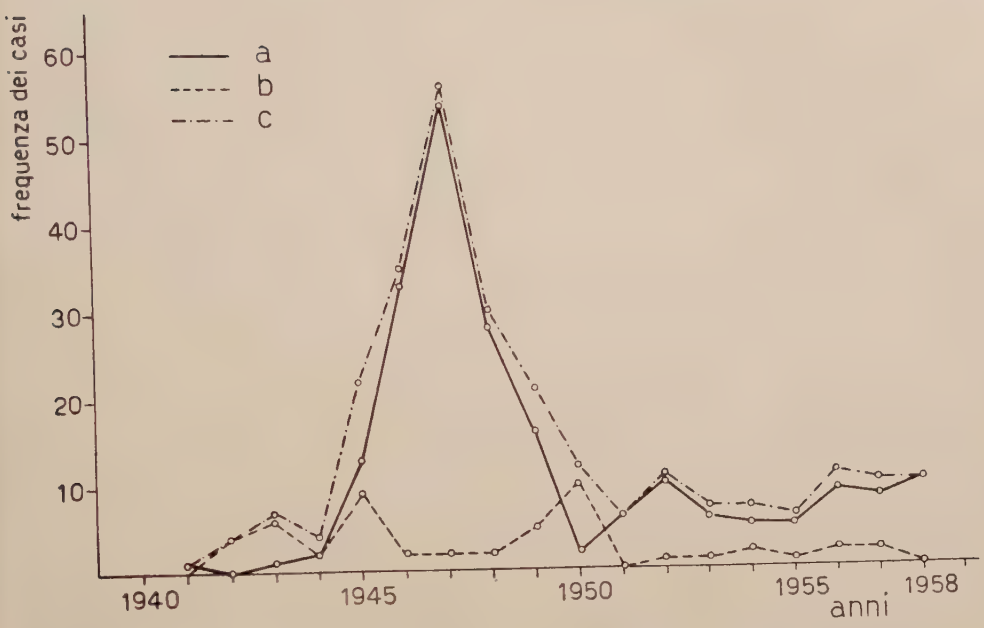

Fig. 1 - Andamento della frequenza dei casi di latrodectismo « altamente probabili » + « probabili » *(a)*, « poco probabili » *(b)*, ed « altamente probabili » + « probabili » + « poco probabili » *(c)* ricoverati negli ospedali di Latina e Priverno durante gli anni dal 1941 al 1958.

lazione dei casi ha avuto inizio con l'anno 1941 per l'ospedale di Latina, con l'anno 1947 per quello di Terracina e con il 1949 per quello di Formia.

Riferendo i casi di latrodectismo (totale dei casi secondo i vari gradi di probabilità) al numero totale delle degenze dei singoli ospedali (vedi Tab. 2, colonna 21a e Tab. 3), oppure riferendo gli stessi casi al numero di abitanti dei Comuni ove hanno sede gli ospedali stessi (vedi Tab. 2, colonna 22a e Tab. 1), il loro ordine per frequenza non cambia. Questo ordine, tuttavia, si riferisce al numero totale (secondo i vari gradi di probabilità) dei casi di latrodectismo, più tutti i casi di punture d'insetti (6 casi di punture d'Imenotteri sono stati segnalati come tali); mentre, in verità, per avere un quadro più esatto della situazione del latrodectismo in ciascun ospedale si dovrebbe tener conto dei soli casi « altamente probabili » + « probabili ». Ma anche in questo caso l'ordine non cambia.

La frequenza più alta di morsi di serpenti si è verificata nell'ospedale di Latina (43,7% dei casi), seguita da Terracina (37,5%); Priverno (12,5%) e Formia (6,2%).

Nel grafico della Fig. 1 viene riportato l'andamento dei casi di latrodectismo negli ospedali di Latina e Priverno durante il periodo compreso fra il 1941 ed il 1958 (sono stati esclusi gli ospedali di Terracina e di Formia perché i dati colà rilevati hanno inizio rispettivamente nel 1947 e nel

1949). In questo grafico si nota che i casi di latrodectismo « altamente probabili » + « probabili » aumentano considerevolmente di numero negli anni 1946-48, con una punta massima nel 1948 (Fig. 1, *a*); mentre i casi « poco probabili » (Fig. 1 *b*) non presentano alcun considerevole aumento durante il periodo di osservazione.

Se viene riferito il numero dei casi « altamente probabili » + « probabili » dei singoli anni al totale delle degenze annuali degli ospedali di Latina e Priverno (gli ospedali di Terracina e Formia sono stati esclusi perché incompleti nei dati riguardanti i primi anni) si ottiene il grafico della Fig. 2 il cui andamento è perfettamente sovrapponibile alla curva *a* della Fig. 1.

La distribuzione di frequenza per età dei casi « altamente probabili » + « probabili » è riportata nel grafico della Fig. 3. In essa si può notare che la frequenza dei casi è maggiore in corrispondenza di due gruppi di età, con i massimi a 22,5 ed a 37,5 anni per i maschi, ed a 20 ed a 32,5 anni per le femmine. Questo grafico si avvicina molto a quello riportato per la

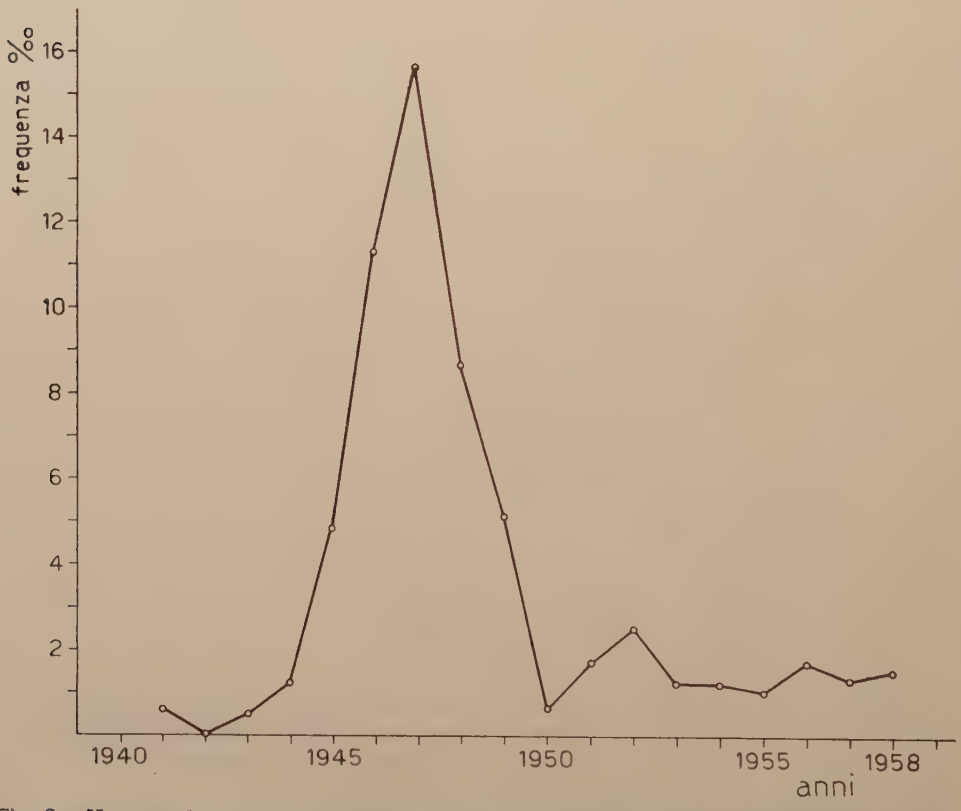

Fig. 2 - Numero dei casi di latrodectismo « altamente probabili » + « probabili » riferiti a 1.000 ricoverati negli ospedali di Latina e Priverno negli anni dal 1941 al 1958.

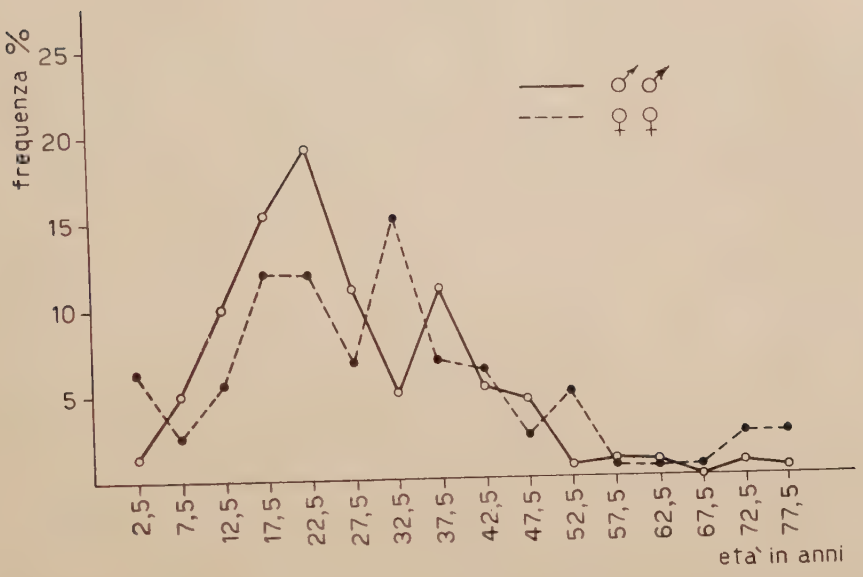

Fig. 3 - Distribuzione di frequenza per età di 139 casi « maschi » e di 79 casi « femmine » di latrodectismo « altamente probabili » + « probabili » ricoverati negli ospedali (o infermerie) della Provincia di Latina negli anni dal 1938 al 1958.

Provincia di Grosseto (4) ove si osserva un fenomeno analogo rispetto alla frequenza per età dei casi, sia per i maschi che per le femmine.

Il grafico della Fig. 4 rappresenta la distribuzione di frequenza mensile dei casi « altamente probabili » + « probabili » di latrodectismo (su 139 maschi e 79 femmine). Nei mesi da giugno ad agosto si osserva la frequenza più alta per i maschi, con un massimo nel mese di luglio (49% dei casi circa); mentre per le femmine la frequenza più alta ha una durata leggermente maggiore, da giugno a settembre, con un massimo nei mesi di luglio ed agosto (35% dei casi circa). Quindi la distribuzione di frequenza mensile dei casi corrisponde a quanto già osservato per l'Italia negli anni 1949-51 (1), per la Provincia di Viterbo (2), di Grosseto (4) e di Roma (3) negli anni 1938-58.

La distribuzione della frequenza secondo la data del ricovero, per i casi « altamente probabili » + « probabili » su 223 casi maschi e femmine è riportata nel grafico della Fig. 5. In essa si osserva che la frequenza è più alta per il periodo di durata del ricovero di 1-3 giorni, massima per 2 giorni (46% dei casi). Anche per la Provincia di Viterbo (2) la durata del ricovero è risultata essere di 2 giorni, mentre per le Province di Grosseto (4) e di Roma (3) di 3 giorni.

Il numero totale dei ricoverati per morsi o punture di Artropodi (per gli ospedali presi in considerazione nel periodo dal 1938 al 1958) rappre-

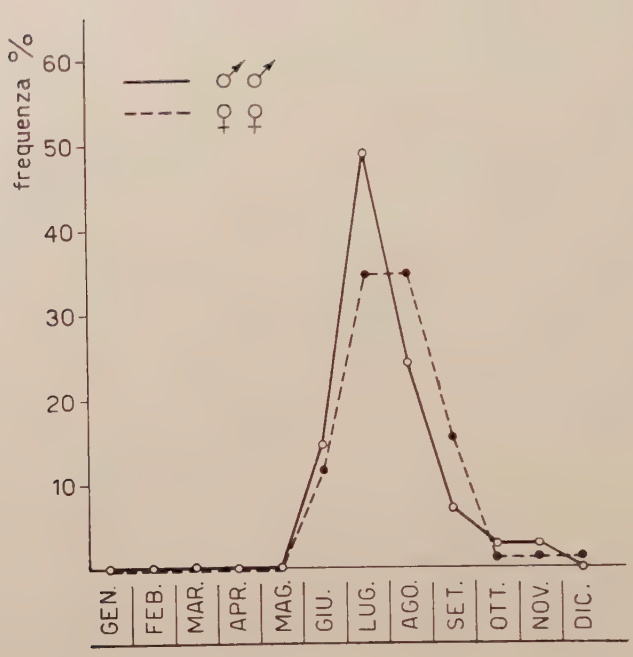

Fig. 4 - Distribuzione di frequenza mensile dei casi « altamente probabili » + « probabili » di latrodectismo ricoverati negli ospedali (o infermerie) della Provincia di Latina negli anni dal 1938 al 1958 (su 139 casi maschi e 79 casi femmine).

senta il 0,28% del numero totale dei ricoverati (103,723), mentre i casi di morsi di *Latrodectus* (casi « altamente probabili » + « probabili ») rappresentano il 0,20%. Il totale delle giornate di ricovero per i 296 casi di punture o morsi di Artropodi è stato di 645, mentre per i morsi di *Latrodectus* (casi « altamente probabili » + « probabili ») è stato di 497.

La Tab. 4 riporta la distribuzione di frequenza per « occupazione » dei casi « altamente probabili » + « probabili » su 105 casi maschi e 58 femmine di latrodectismo. Da essa risulta che per i maschi i casi più frequenti sono stati registrati fra gli agricoltori (81,9%), mentre le altre occupazioni (braccianti, operai, pastori e studenti) appaiono relativamente poco colpite; per le femmine i casi più frequenti sono stati fra le contadine (68,9%), meno frequenti fra le casalinghe ed operaie. Ciò è in buon accordo con quanto già osservato per le altre Province.

Non è stato segnalato, negli ospedali ove è stata effettuata l'inchiesta, alcun caso letale da puntura o morso di animale velenoso.

Degno di nota è il caso di B.S., agricoltore di anni 25, che è stato morso due volte da una « tarantola », cioè il 3 luglio ed il 2 agosto 1954. Il primo ricovero è durato 4 giorni, mentre il secondo solo 1 giorno.

TABELLA 4

Distribuzione di frequenza, per « occupazione », dei casi « altamente probabili » + « probabili » di latrodectismo ricoverati negli ospedali ed infermerie della Provincia di Latina negli anni dal 1938 al 1958.

	Occupazione	N. dei casi	%
Maschi	Agricoltori	86	81,9
	Braccianti	7	6,6
	Operai	6	5,7
	Pastori	5	4,7
	Studenti	1	0,9
	Totale	105	
Femmine	Contadine	40	68,9
	Casalinghe	16	27,6
	Operaie	2	3,4
	Totale	58	

III - *Conclusioni.*

Dall'esame dei risultati per la Provincia di Latina possono essere tratte le seguenti conclusioni:

1) Il numero dei ricoveri per morso o puntura di Artropodi (296 casi) sono risultati circa 18 volte più numerosi dei ricoveri per morsi di serpenti (16 casi).

2) I casi di latrodectismo appartenenti ai sottogruppi « altamente probabili » + « probabili », secondo la classificazione usata, sono risultati, per gli ospedali considerati, complessivamente 222, con un rapporto sessi decisamente in favore dei maschi. I casi « poco probabili » sono risultati 66. I casi ricoverati per puntura d'Imenotteri sono risultati 6, mentre solo 2 per punture di scorpioni.

3) Gli ospedali ove sono stati effettuati i ricoveri dei casi di latrodectismo appartengono alla zona costiera e bassa della Provincia, eccettuato l'ospedale di Priverno che, pur essendo situato in collina, è prossimo ad una vasta, bassa, pianura. La frequenza più alta dei ricoveri per casi di latrodectismo si è riscontrata nell'ospedale di Latina.

4) La distribuzione della frequenza dei casi di latrodectismo nel periodo fra il 1941 ed il 1958 mostra un considerevole aumento del numero dei casi durante gli anni 1946-48, con una punta massima nel 1947.

5) La distribuzione di frequenza per età dei casi di latrodectismo mostra una frequenza più alta per due gruppi di età, con i massimi a

22,5 ed a 37,5 anni per i maschi, ed a 20 ed a 32,5 anni per le femmine.

6) La distribuzione di frequenza mensile dei casi di latrodectismo mostra una frequenza notevole più alta per i mesi di giugno-agosto, con un massimo in luglio, per i maschi, e per i mesi di giugno-settembre, con un massimo nei mesi di luglio-agosto, per le femmine.

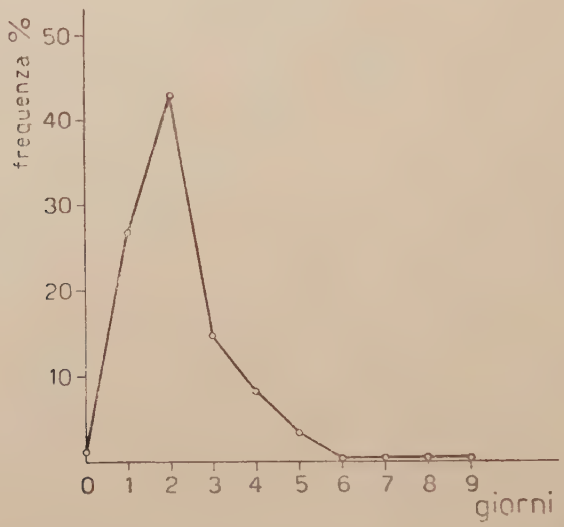

Fig. 5 - Distribuzione di frequenza per la durata del ricovero ospedaliero dei casi « altamente probabili » + « probabili » di latrodectismo ricoverati negli ospedali ed infermerie della Provincia di Latina negli anni dal 1938 al 1958 (su 223 casi maschi + femmine).

7) La distribuzione di frequenza per la durata del ricovero è più alta per il periodo di durata di 1-3 giorni, massima per quello di 2 giorni,

8) Nessun caso letale per morso di *Latrodectus* si è verificato nella Provincia durante il periodo in esame; né negli ospedali presi in considerazione è stato segnalato, per lo stesso periodo, alcun decesso per morso o puntura di altro animale velenoso.

RINGRAZIAMENTI: Ringrazio sentitamente, per avermi agevolato nella raccolta dei dati per il presente lavoro, il Medico Provinciale di Latina, Dr. V. Mele, i primari medici dei vari ospedali visitati, Prof. G. Bocchetti di Latina, Dr. A. Condorelli di Priverno, Dr. R. Martone di Terracina e Dr. M. Tipaldi di Formia.

La mia particolare riconoscenza va al Dr. M. Alessandrini, Mariologo del Comitato Antimalarico di Latina, per i preziosi suggerimenti ed aiuti fornitimi, ed alla Sezione di Latina del « Centro di Studio per la Lotta contro gli Insetti Nocivi » dell'Istituto Superiore di Sanità diretta dal Dr. E. Mosna per avermi messo a disposizione i mezzi per le indagini nell'Agro Pontino.

Ringrazio inoltre il personale delle varie segreterie ospedaliere per avermi validamente aiutato nel rintracciare le cartelle nosologiche.

SURVEY OF THE CASES OF LATRODECTISMUS OCCURRED DURING THE YEARS FROM 1938 TO 1958 IN SOME PROVINCES OF ITALY. NOTE IV. THE PROVINCE OF LATINA.

The epidemiological data on latrodectismus in the Province of Latina during the years 1933-58 show that:

1) The « highly probable » + « probable » latrodectismus cases are 222, with a sex-ratio always in favour of males. 2) The cases were reported mainly from the coastal zone of the Province, the highest frequency being at Latina's hospital. 3) The frequency of cases shows a considerable increase *a)* during the years 1946-48, with the highest peak in 1947, *b)* in the groups of age with maxima at 22,5 and 37,5 years for males, and at 20 and 32,5 for females, and *c)* during the months of June-August, with the highest peak in July for males, and during the months of June-September, with the highest peak in July-August for females. 4) A period of 2 days hospital stay is most frequent. 5) No lethal cases of latrodectismus are reported.

BIBLIOGRAFIA

1) BETTINI S. (1954): Distribuzione dei casi di latrodectismo in Italia durante gli anni 1949-51. *Rend. Ist. Sup. San., 17,* 333-342.
2) BETTINI S. (1960): Indagine sui casi di latrodectismo verificatisi negli anni dal 1938 al 1958 in alcune Province d'Italia. Nota I - Provincia di Voterbo. *Riv. di Parass. 21,* 21-38 (e *Rend. Ist. Sup. San. 23,* 213-232).
3) BETTINI S. e FINIZIO E. (1960): Indagine sui casi di latrodectismo negli anni dal 1938 al 1958 in alcune Province d'Italia. Nota II - Provincia di Grosseto, *Riv. di Parass. 21,* 131-141 e *Rend. Ist. Sup. San., 23,* 1276-1287.
4) BETTINI S. (1960): Indagine sui casi di latrodectismo verificatisi negli anni dal 1938 al 1958 in alcune Province d'Italia. Nota III - Provincia di Roma. *Riv. di Parass., 21,* 307-317 e *Rend. Ist. Sup. San. 24.*

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 2 - Giugno 1961

NOTE E OSSERVAZIONI

ACCOPPIAMENTO ARTIFICIALE SENZA DECAPITAZIONE DEL MASCHIO IN *ANOPHELES LABRANCHIAE* FALL. (*)

NICOLÒ CARAVAGLIOS (**)

Ricerche di Roeder (1935) hanno dimostrato che nel ganglio sottoesofageo dei maschi delle Mantidi esiste un centro della inibizione all'accoppiamento. Tale centro viene rimosso con la decapitazione e, com'è ben noto, in natura, le femmine di Mantidi decapitano il maschio per indurlo all'accoppiamento.

In base a tale conoscenza dottrinale, Mc Daniel e Horsfall (1957) hanno messo a punto una tecnica per l'accoppiamento artificiale fra i sessi di *Aëdinae*.

Frizzi (1958) ha applicato agli Anofelini la tecnica descritta da Mc Daniel e Horsfall. Essa consiste nel mettere in contatto l'estremità dell'addome di una femmina, sottoposta a narcosi eterea, con l'estremità dell'addome di un maschio decapitato e con il torace immobilizzato mediante incollamento del mesonoto su cartoncino a mezzo di una goccia di soluzione acetonica di celluloide (***).

E' noto che le specie di Anofelini sono state divise dal punto di vista della maniera di accoppiarsi, in due gruppi: specie *eurigame*, cioè incapaci di accoppiarsi in spazi ristretti, e specie *stenogame*, capaci di accoppiarsi anche in piccole gabbie.

Al primo gruppo appartiene l'*Anopheles labranchiae* che finora non è stato possibile allevare in laboratorio a causa della sua esigenza di un volo nuziale.

Riporto le osservazioni di Grandi, riferite da Grassi (1921) e da Mariani (1948), sulle modalità dell'accoppiamento in natura di *A. labranchiae:*

« Alla spicciolata le femmine, presumibilmente provenienti dai porcili e dalle case prossime, si avvicinano alle nuvole dei maschi. Non mi è stato possibile stabilire rigorosamente il punto dell'incontro; io sono riuscito a scorgere le coppie quasi sempre nelle immediate adiacenze delle nuvole e talora nell'interno di esse. Le catture di tutti o quasi tutti gli individui delle nuvole stesse può permettere di constatare come esse siano costituite esclusivamente di maschi. Le coppie appena formate si allontanano volando e generalmente nel senso del vento; i due si uniscono disposti con i corpi divergenti. Delle tre coppie catturate due avevano femmine digiune, la terza una femmina a ventre pieno di sangue (evidentemente succhiato da un certo numero di ore) ».

Questo atteggiamento biologico dell'*A. labranchiae* non sembra strettamente legato alle abitudini esofile dei maschi di questa specie, che, come è noto, si rinvengono soltanto eccezionalmente in ambienti confinati. Infatti, se in gabbie anche di modeste dimensioni (cm. 17x9x9) si introducono maschi di *A. atroparvus* e femmine di *A. labranchiae* si ottengono accoppiamenti normali, mentre l'incrocio inverso (maschi di *labranchiae* × femmine di *atroparvus)* non riesce possibile.

Quanto ora riferito induce a pensare che nei maschi di *labranchiae*, affinché siano

---

(*) Ricerche eseguite sotto gli auspici e con il contributo del Ministero della Sanità.

(**) *Istituto d'Igiene dell'Università di Palermo* (Direttore: Prof. G. D'Alessandro).

(***) Desidero esprimere qui la mia gratitudine al Prof. Frizzi che mi ha accolto nel suo laboratorio ed addestrato alla tecnica sopra descritta.

disposti all'accoppiamento, siano indispensabili gli stimoli visivi prodotti dai movimenti del nugolo danzante nel quale si è introdotta la femmina.

E' stato nostro precipuo obbiettivo l'ottenimento, attraverso la pratica applicazione della tecnica descritta da Frizzi, di un ceppo di laboratorio di *Anopheles labranchiae*, soprattutto allo scopo di studiare la influenza delle condizioni di cattività sul polimorfismo cromosomico degli Anofeli del sottogenere *Maculipennia* Buonomini e Mariani 1946). Pertanto nel maggio 1960 ho iniziato gli esperimenti di accoppiamento artificiale di individui di *A. labranchiae*, ottenuti da larve pescate in focolai naturali e da uova deposte da femmine catturate in natura. Da quasi tutte le femmine, accoppiate artificialmente, ho ottenuto ovature fertili e gradualmente sono riuscito ad incrementare il ceppo, anche con l'apporto di ovature di femmine catturate in natura.

* * *

Lo spunto alle presenti indagini ci fu dato da esperimenti da noi condotti sull'accoppiamento indotto fra individui di *A. atroparvus*. In tale indagine, i maschi subito dopo l'accoppiamento dovevano essere sottoposti a dissezione. Supposi che trattandosi di specie stenogama fosse possibile omettere la decapitazione dei maschi. Effettivamente gli accoppiamenti ottenuti con la tecnica di Frizzi esclusa la decapitazione dei maschi, riuscirono perfettamente su numerose coppie. Questa constatazione mi suggerì di sperimentare se fosse possibile ottenere accoppiamenti fertili, senza decapitazione dei maschi, anche in *Anopheles labranchiae*.

Fin dalle prime prove, avendo osservato normale comportamento dei maschi non decapitati rispetto ai movimenti copulatori, ebbi motivo di supporre che la decapitazione, nel caso degli Anofeli, non fosse indispensabile.

In effetti ci serviamo ormai di accoppiamenti indotti senza decapitazione dei maschi per l'allevamento in laboratorio di *A. labranchiae*.

Non sono state rilevate differenze nella fertilità delle uova di femmine accoppiate con maschi non decapitati in confronto di quelle ottenute con la tecnica della decapitazione

Da quanto esposto più sopra, sembra potersi concludere che, nel caso degli Anofeli, e probabilmente anche dei Culicini, i naturali fenomeni di inibizione vengono completamente soppressi nel maschio immobilizzato: la stimolazione per contatto degli scleriti genitali induce all'apertura dei gonostili, alla presa delle estremità dello addome della femmina ed alla copulazione.

La tecnica da me impiegata presenta due vantaggi e cioè:

1) semplificazione delle operazioni preliminari: si omette infatti l'asportazione del capo che è una operazione piuttosto delicata;

2) possibilità di riutilizzare i maschi per ulteriori accoppiamenti: sono riuscito, infatti a conservare vivi alcuni maschi, anche per 10 giorni, dopo due accoppiamenti a distanza di 72 ore, uno dall'altro (*).

Altro vantaggio, derivante dal secondo, è quello di permettere che le cellule dei tubi malpighiani dei maschi raggiungano la maturità necessaria per un esame citogenetico (Mariani e Bruno, l. c.).

Attualmente il nostro ceppo di laboratorio di *A. labranchiae* viene allevato esclusivamente con il procedimento da me descritto ed è sufficientemente ricco per l'espletamento di ricerche citogenetiche. L'attività ovarica e trofica delle femmine non ha mostrato interruzioni stagionali, nelle condizioni di allevamento in laboratorio (temp. 26°C 2 $\pm$ 2°C; umidità 60-68%); infatti, anche nei mesi di Gennaio e Febbraio abbiamo ottenuto numerose ovature fertili.

SUMMARY: A semplification of the technique for induced copulation in *A. labranchiae* is described. Experiments have demonstrated that the decapitation of the males, as described by the technique used up to now, is not necessary for the copulation. It is sufficient to immobilize the male, by fixing the mesonotum on a piece of cardboard, and then to bring the genital armature in contact with the end of the abdomen of the anesthetized female.

(*) L'asportazione del terzo paio di zampe, previsto dalla tecnica descritta da Frizzi, non è indispensabile e deve essere evitata quando si vogliono mantenere in vita i maschi. E' possibile staccare il maschio dal cartoncino sul quale era stato fissato operando delicatamente.

Some remarks are made on the eurigamic behavior of *A. labranchiae*. The inhibition of copulation which occurs when space is limited is explained by the hypothesis that the males of this species make use of the visual stimuli of the eurigamic nuptial dance in order to bring about copulation. Using the described technique for induced copulation it is possible to maintain a large colony of *A. labranchiae* in the laboratory.

BIBLIOGRAFIA

BUONOMINI G., MARIANI M. (1945 e 1954): Nuove vedute sulla malaria di M. Ascoli, Ist. Bibliogr. Ital., Roma 1945. *Boll. Soc. Ent. Ital., 84,* 35-49.

FRIZZI G. (1958): Primi risultati di incrocio fra specie selvatiche di *Anopheles maculipennis*, utilizzando la fecondazione artificiale. *Rend. Ist. Lomb. Accad. Sc. e Lett., 92,* 515-522.

GRASSI G. B. (1921): Gli amori degli Anofeli. *Annali d'Igiene*, 31, 453.

MARIANI M. (1948): Analisi del comportamento biologico degli Anofeli. *Giorn. Sc. Nat. Econ. Palermo, 45:* Mem. n. I.

MARIANI M., BRUNO SMIRAGLIA C. (1957): Presenza di cromosomi politenici nelle cellule vitellogene degli ovari di femmine adulte di *Anopheles*. *Boll. Soc. Ent. Ital., 87,* 23.

MCDANIEL S. N., HARSFALL W. R. (1957): Induced copulation in *Aëdinae* mosquitoes. *Science, 125,* 745.

ROEDER K. D. (1935): *Biol. Bull, 69,* 203, (citato da Mc Daniel e Horsfall).

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 2 - Giugno 1961

RECENSIONI

DE CARNERI I.: *Parassitologia,* 4+348 pp., 61 figg.. Editrice Ambrosiana, Milano. L. 5.000.

Il titolo della copertina « Parassitologia » — con tutta probabilità un'idea editoriale — non corrisponde a quello che compare all'interno, e che inquadra con maggiore esattezza la materia trattata, « Nozioni di parassitologia generale e di protozoologia ed elmintologia umane ».

Lo scopo del libro è precisato dall'A. nell'Introduzione: fornire « una raccolta di nozioni... che aiuti lo studente a farsi un'idea dei fenomeni del parassitismo, dei processi di adattamento e di selezione che esso comporta e dei modi e delle « ragioni » di vita dei principali parassiti dell'uomo »; una introduzione alla parassitologia medica cioè su basi essenzialmente biologiche. Questa impostazione, che ci trova pienamente consenzienti, è stata rigorosamente seguita dall'A. in tutta la trattazione, e possiamo quindi affermare che egli ha raggiunto pienamente gli scopi che si era fissati.

Il libro consta, oltre l'Introduzione, di 4 Sezioni. La prima è dedicata alla parassitologia generale e, cominciando dall'inquadramento del fenomeno parassitario nell'ambito delle simbiosi, espone e discute via via i vari aspetti generali relativi ai parassiti dell'uomo. La seconda e la terza sezione illustrano in ordine sistematico, seguendo le classificazioni più recenti, le varie specie parassite dell'uomo, rispettivamente Protozoi ed Elminti; in accordo con l'indirizzo del libro, sono sempre ampiamente trattate morfologia, biologia ed epidemiologia, mentre solo cenni essenziali — quanto basta a dare al lettore una idea dell'importanza del parassita trattato ed una prima indicazione sugli argomenti — sono dedicati alla patologia, alla diagnosi, alla profilassi ed alla terapia; clinica ed anatomia patologica non vengono considerate. L'ultima sezione è di tecnica parassitologica: comprende l'esame delle feci, quello microscopico del sangue, cenni sulle colture di Protozoi. Il volume si conclude con un elenco delle più importanti opere, limitate a quelle pubblicate negli ultimi 12 anni, e periodici di parassitologia (a nostro parere qualche titolo poteva essere tralasciato in cambio di altri).

Il libro presenta una buona armonia nelle sue parti — si può solo osservare che i Protozoi hanno avuto una trattazione più dettagliata, come numero di specie, che non gli Elminti —, e grazie ad un accurato spoglio della letteratura mondiale è ricco di informazioni recenti. Privo delle pretese di un trattato, esso viene tuttavia a colmare una lacuna nella recente letteratura parassitologica italiana e siamo pertanto certi che il suo accoglimento da parte di quanti vogliono essere introdotti nel campo della parassitologia, ed in particolare della parassitologia medica, sarà il migliore. Per cui non ci resta che complimentarci con l'A., giovane e serio cultore di problemi parassitologici, per l'esito della sua fatica.

M. RICCI

JAWETZ E., MELNICK, J. L. e ADELBERG, E. A.: *Review of medical Microbiology,* 376 pp. Lange Medical Pubblication, Los Altos, California. $ 5.

E' questa ormai la IV edizione del libro, che apparve nel 1954 e che viene regolarmente ripubblicato ad intervalli di 2 anni, perché esso possa mantenersi completamente aggiornato. Non è certamente questo il più trascurabile dei notevoli van-

taggi offerti da un testo, come le dispense dei 3 Autori americani, su di un argomento quale la Microbiologia Medica, che ha presentato tali progressi in questi ultimi anni, specialmente nel campo più generale dei principi basilari della biologia, da rendere difficile ai trattati di mantenersi *pari passu* con la conoscenza scientifica, in così rapida evoluzione.

Come ben lo chiarisce il titolo e come è nell'intenzione degli Autori, lo scopo di questa « rassegna sintetica » è principalmente quello di offrire allo studente di medicina ed al medico generico, un manuale di studio e di utile consultazione, che insieme alle nozioni di carattere eminentemente pratico (come per es., la diagnosi laboratoristica delle varie infezioni, la cura e la profilassi) unisca anche la trattazione breve, ma possibilmente completa, dei concetti fondamentali di biologia, che sono assolutamente indispensabili per potere ben comprendere i progressi, a volte notevoli, fatti nel campo della biochimica, della chemioterapia, della virologia, ecc.

Il libro è diviso in 36 capitoli, di cui i primi 23 sono dedicati al mondo dei batteri, 1 alle rickettsie e gli altri ai virus. Ogni capitolo tratta un argomento ben preciso in un modo schematico, notevolmente chiaro, fissando l'attenzione del lettore sugl elementi più importanti e tralasciando ciò che può essere semplicemente teorico o che viene ritenuto non essenziale. Ovunque si pone l'accento sui dati di fatto, sui risultati e sulle impostazioni sperimentali.

Questo libro di Jawetz, di Melnick e di Adelberg, è veramente un manuale prezioso e di notevole utilità, non solo per lo studente, ma anche per il biologo, che desideri avere notizie di carattere specifico di microbiologia medica: allo scrivente sembra anche che esso possa costituire un esempio pratico per gli Autori italiani, di come si possa preparare un testo di insegnamento completo e nello stesso tempo non farraginoso.

I. ARCHETTI

LECHAT M. - *Etude des mutilations lépreuses.* 276 pp., 85 radiografie e arteriografie. Masson et C.ie, Paris. 1961. N.F. 70.

La terapia solfonica che si è rivelata altamente efficace nel trattamento delle lesioni cutanee e mucose della lebbra, è purtroppo molto meno attiva sull'infezione dei tronchi nervosi che porta ancora oggi alla comparsa di gravi mutilazioni.

Da ciò l'attualità del libro di Lechat, frutto di sette anni di lavoro presso il lebbrosario di Yonda-Coquilhatville nella Repubblica del Congo.

Ad una dettagliata analisi dei reperti radiologici delle mutilazioni, fa seguito un capitolo dedicato allo studio della evoluzione delle mutilazioni nei malati sottoposti a terapia solfonica. Attento esame merita il capitolo sull'interpretazione clinica delle lesioni, nel quale vengono studiati i rapporti fra il quadro radiologico, il tipo di lebbra, la reazione leprosa, i disturbi della sensibilità, le ipertrofie dei tronchi nervosi e le ulcere.

Un contributo notevole alla conoscenza della patogenesi delle mutilazioni viene offerto nell'ultimo capitolo in cui vengono esposti e attentamente analizzati, in rapporto ai diversi tipi di lesioni, i dati relativi al dosaggio del calcio, del fosforo, delle fosfatasi e delle proteine seriche, alla cronassimetria, alla oscillografia, alla termometria cutanea e alla arteriografia.

Sulla base di questi rilievi, l'A. avanza l'ipotesi secondo cui i fenomeni di osteolisi si svilupperebbero in conseguenza delle alterazioni vascolari, a loro volta legate alla lesione dei nervi vasoregolatori.

Particolarmente apprezzabile il rigore metodologico del Lechat, soprattutto nella scelta dei campioni da studiare e nella elaborazione statistica dei dati.

Il volume è corredato da una bibliografia ricca e aggiornata.

L. VILLA

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXII - N. 2 - Giugno 1961

NECROLOGI

Il 22 marzo 1961 spegnevasi improvvisamente a Rosh Pina in Israele il Professor GIDEON GERONIMO MER, Direttore della Stazione di Ricerca sulla Malaria dell'Università Ebraica.

Il Mer nacque a Poswol in Lituania nel 1894. Iscrittosi alla Facoltà di Medicina della Università di Heidelberg in Germania nel 1911, dopo due anni interruppe gli studi per raggiungere, spinto dall'ardore del suo temperamento, la Palestina nella veste di pioniere agricoltore.

Nel 1914 passò in Egitto, ove arruolatosi nella Legione Ebraica, partecipò alla seconda guerra mondiale con l'esercito inglese, rimanendo ferito durante la campagna di Gallipoli. A guerra finita, venne assunto nella Stazione Antimalarica dell'Università di Gerusalemme, partecipando attivamente, quale ispettore malariologo, alle campagne antimalariche allora in corso nelle varie zone d'Israele.

Nel 1925 decise di riprendere gli studi di medicina, che volle portare a termine nella Università di Napoli, ove nel 1927 si laureò con pieni voti e lode. Da Napoli passò a Roma per seguire i lavori del Prof. Grassi nel campo della malaria, La guida di così insigne Maestro, non fu indubbiamente senza importanza nella formazione spirituale del giovane medico, contribuendo non solo ad elevarne sempre più lo spirito d'osservazione e l'amore alla ricerca sperimentale, ma influì anche a rafforzare in Lui l'interesse per gli studi sulla malaria, interesse che con gli anni maturò in passione fino a farlo divenire quell'infaticabile apostolo della lotta antimalarica, ammirato nel Suo Paese e fuori. Il Mer fu sempre riconoscente al Grassi, del quale si considerò sempre suo allievo.

Nel 1929 ritornò in Palestina ove venne assunto alla Stazione di Ricerche sulla Malaria dell'Università Ebraica a Rosh Pina, della quale diveniva più tardi il Direttore.

Quale tenente colonnello dell'esercito inglese prese parte alla seconda guerra mondiale; incaricato della protezione contro la malaria delle truppe inglesi in varie zone del Medio Oriente e successivamente in Birmania, si dimostrò valente mala-

riologo, formidabile organizzatore ed animatore infaticabile da riuscire a liberare l'armata inglese da una sicura catastrofe a causa della malaria. A riconoscimento di questa Sua opera nel 1943 Gli venne consegnata personalmente dal Ministro della Guerra dell'Inghilterra l'alta onorificenza militare O.B.E.

Alla fine della guerra ritornò al suo posto di lavoro a Rosh Pina, ove riprese con nuova lena la lotta contro la malaria contribuendo in modo decisivo alla pratica eradicazione di questo flagello del Suo Paese.

Durante gli anni 1955-56 coprì l'alta carica di Direttore Generale del Ministero della Sanità d'Israele.

Numerosi e brillanti contributi scientifici furono portati dal Mer. E' sufficiente ricordare le ricerche sugli emosporidi dei pipistrelli, sulla trasmissione sperimentale nell'uomo della quartana a mezzo anofeli, sulla determinazione dell'età fisiologica delle zanzare, sulle ovaie degli anofelini, sulla biologia dell'*A. elutus*, sulla chemioterapia della malaria ecc., fino alla importante serie di lavori sulla lotta contro la mosca domestica nel campo pratico, sulla resistenza delle mosche agli insetticidi di contatto, sul meccanismo della resistenza agli insetticidi, sulla resistenza di comportamento, per rendersi conto della perdita che soprattutto la Malariologia ha avuto con la Sua morte.

La Sua scomparsa improvvisa lascia un grande vuoto presso quanti lo conobbero e lavorarono con Lui. Al dolore della moglie e dei tre figli si unisce, riverente e commosso, l'omaggio dei colleghi.

E. MOSNA

Direttore responsabile: Dott. E. MOSNA

Tipografico Editrice dell'Orso Roma, Via dell'Orso, 28